



T.C.

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

PULMONER EMBOLİ TANISI ALMIŞ HASTALARDA PROTEİN C
GENİ POLİMORFİZMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Tuba CEVİZ

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans

Danışman

Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ

TOKAT, 2015

PULMONER EMBOLİ TANISI ALMIŞ HASTALARDA PROTEİN C
GENİ POLİMORFİZMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: 29 / 09 / 2015

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

Başkan : Doç.Dr. Nevin KARAKUŞ

Üye : Yrd.Doç.Dr. Ertan ALTAYLI

Üye : Yrd.Doç.Dr. Nurşah BAŞOL

İmzası


.....

.....

.....

Bu tez, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../..... tarih ve sayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü: Doç. Dr. Hacı Ömer ATEŞ

Mühür

İmza

T.C.
GAZIOSMANPAŐA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĐÜ'NE

Bu belge ile bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(.../.../200...)

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Tuba CEVİZ

İmza

TEŞEKKÜR

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ile ilgili edindiğim bilgilerin çoğunu bana öğreten ve tez çalışmalarım sırasında bana her türlü destek ve yardımı veren Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ'a, tez çalışmalarım sırasında büyük bir özveriyle araştırılacak hasta grubunun oluşturulmasını sağlayan Acil Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Nurşah BAŞOL'a, çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Hacı Ömer ATEŞ'e, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU'na ve ayrıca laboratuvar çalışmalarında bilgi ve becerilerimin gelişmesinde bana her zaman yardımcı olan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Serbülent YİĞİT'e teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında her türlü yardım ve desteği gösteren Anabilim Dalımız Araş. Gör. Nihan BOZKURT'a, Araş. Gör. Saime SEZER'e ve Araş.Gör. Emel ENSARİ ÖZSOY'a teşekkür ederim.

Ayrıca benden yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Pınar ÇOĞAŞ'a teşekkür ederim.

Yüksek Lisans çalışmalarım sırasında gösterdikleri sabır ve desteklerinden dolayı aileme teşekkür ederim.

ÖZET**PULMONER EMBOLİ TANISI ALMIŞ HASTALARDA PROTEİN
C GEN POLİMORFİZMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ****Tuba CEVİZ, Yüksek Lisans Tezi****Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tokat, 2015**

Pulmoner emboli, genellikle derin ven trombozunun (DVT) bir komplikasyonudur. Bacak derin venlerinde meydana gelen trombüslerden kopan parçaların pulmoner arter ve/veya dallarını tıkaması sonucu gelişir. Pulmoner emboli ve DVT'nin genellikle birlikte seyretmesi sebebiyle, iki olay birlikte venöz tromboembolizm (VTE) olarak da ifade edilir. Yapılan çalışmalarda protein C (PROC) eksikliğinin pulmoner emboli için risk faktörü olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda pulmoner emboli ile *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için 114 pulmoner emboli geçirmiş hasta ile 120 sağlıklı kontrol DNA'ları polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) ile analiz edildi.

Hasta ve kontrollerin genotip sıklıkları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.047$). Daha da anlamlı bir ilişki hasta ve kontrol genotipleri CC'ye karşı TT+CT karşılaştırıldığında görüldü ($p=0.029$). Pulmoner emboli geçirmiş hastaların demografik ve klinik özellikleri ile *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi karşılaştırıldığında, toraks BT değerleriyle -1654C>T polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu görüldü ($p=0.017$).

Sonuç olarak pulmoner emboli ile *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: PROC, VTE, pulmoner emboli, polimorfizm

SUMMARY

EVALUATION OF PROTEIN C GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH DIAGNOSIS OF PULMONER EMBOLI

Tuba CEVİZ, MsC Thesis

Gaziosmanpaşa University, 2015

Pulmonary embolism is usually a complication of deep vein thrombosis (DVT). Pulmonary embolism develops as a result of obstruction of pulmonary artery and / or branches with pieces that ruptured from the deep vein thrombosis of the leg. Pulmonary embolism and DVT is also referred as venous thromboembolism (VTE) because of two events often remain together. In the studies it was found that protein C (PROC) deficiency is to be a risk factor for pulmonary embolism.

The DNAs of 114 pulmonary embolism patients and 120 healthy controls have been analysed by polimerase chain reaction (PCR) and restriction fragment lenght polymorphism (RFLP) to evaluate the relation between *PROC* gene -1654C>T polymorphism and pulmonary embolism in our study.

When the genotype frequencies of patients and controls were compared, statistically significant differences were found between them ($p=0.047$). More significant association was observed when CC genotype compared against CC+TT genotypes ($p=0.029$). A statistically significant association was observed between chest CT values and -1654C>T polymorphism when demographic and clinical characteristics of patients compares with *PROC* gene -1654C>T polymorphism ($p=0.017$).

As a result, a statistically significant association was observed between pulmonary embolism and *PROC* gene -1654C>T polmorphism.

Key words: PROC, VTE, pulmonary embolism, polymorphism

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ETİK SÖZLEŞME.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
SUMMARY.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. PULMONER EMBOLİ.....	5
2.1.1. Pulmoner Emboli'nin Epidemiyolojisi.....	6
2.1.2. Pulmoner Emboli'nin Semptom ve Belirtileri.....	7
2.1.3. Pulmoner Emboli'nin Risk Faktörleri.....	8
2.1.3.1. Pulmoner Emboli İçin Genetik Risk Faktörler.....	8
2.1.3.2. Pulmoner Emboli İçin Kazanılmış Risk Faktörleri.....	15
2.1.4. Pulmoner Emboli Tanısı.....	17
2.2. PROTEİN C (PROC).....	20
2.3. <i>PROC</i> GENİ VE <i>PROC</i> GEN POLİMORFİZMİ.....	25
3. MATERYAL ve METOT.....	28
3.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN ARAÇ ve GEREÇLER.....	30

	Sayfa
3.1.1. Aletler ve Gereçler.....	30
3.1.2. Kimyasal Maddeler.....	30
3.1.3. Çözeltiler.....	31
3.2. YÖNTEM.....	32
3.2.1. DNA İzolasyonu.....	32
3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	33
3.2.3. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Analizi.....	34
3.2.4. Elektroforez Tekniği.....	34
3.2.5. <i>PROC</i> Geni -1654C>T Polimorfizmi PZR Analizi.....	35
3.2.6. <i>PROC</i> Geni -1654C>T Polimorfizmi RFLP Analizi.....	38
3.3. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER.....	39
4. BULGULAR.....	40
5. TARTIŞMA.....	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	50
7. KAYNAKLAR.....	51
8. ÖZGEÇMİŞ.....	63

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1.4.1: Pulmoner emboli klinik tanısında Wells puanı ve gözden geçirilmiş Cenevre puanı.....	18
Tablo 3.1: Bireylerin hasta ve kontrol grubuna dahil edilip edilmeme kriterleri.....	29
Tablo 3.2.5.1: <i>PROC</i> geni -1654C>T polimorfizminin analizinde kullanılan primerler.....	35
Tablo 3.2.5.2: <i>PROC</i> geninin -1654C>T polimorfizmini içeren bölgesinin klonlanması için kullanılan PZR karışımı.....	37
Tablo 3.2.5.3: <i>PROC</i> geninin ilgili kısmının kopyalanması için kullanılan PZR programı	37
Tablo.3.2.6.1: <i>PROC</i> geni -1654C>T polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan RFLP karışımı.....	38
Tablo 3.2.6.2: <i>PROC</i> geni -1654C>T polimorfizmi için RFLP sonucunda oluşan bantların boyutları.....	39
Tablo 4.1: Çalışmaya dahil edilen pulmoner emboli hastaları ve kontrol grubundaki bireylerin cinsiyet ve yaş ortalamalarına ait istatistiksel bulgular.....	40
Tablo 4.2: Pulmoner emboli hasta grubu ve kontrol grubunun <i>PROC</i> geni -1654C>T polimorfizmi için genotip ve allel dağılımı.....	42
Tablo 4.3: Çalışmaya dahil edilen pulmoner emboli hastalarının demografik ve klinik özelliklerinin <i>PROC</i> geni -1654C>T polimorfizmine göre değerlendirilmesi.....	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.2.1: APC aktivitesine aracılık eden APC ekzosit yapısı	22
Şekil 2.2.2: Özgün ekzosit 37-ilmek ve kalsiyum bağlı ilmeğin birlikte yan yana şematik olarak gösterimi.....	23
Şekil 2.2.3: PROC aktivasyonu ve APC aktiviteleri	24
Şekil 2.3.1: <i>PROC</i> geninin kromozom 2 üzerindeki yerleşiminin gösterimi.....	25
Şekil 2.3.2: <i>PROC</i> geninin ekzon bölgelerinin gösterimi.....	26
Şekil 3.2.5.1: <i>PROC</i> geni -1654C>T polimorfik bölgesi ve primerlerin bağlanma bölgelerinin gösterilmesi.....	36
Şekil 4.1: <i>PROC</i> geni -1654C>T polimorfik bölgesinin BseGI (BtsCI) restriksiyon endonükleazı ile belirlenen RFPL sonuçları.....	41
Şekil 4.2: Pulmoner emboli hastaları ve sağlıklı kontrollerde genotip frekanslarının karşılaştırılması	43
Şekil 4.3: Pulmoner emboli hastaları ve sağlıklı kontrollerde allel frekanslarının karşılaştırılması.....	43

SİMGELER ve KISALTMALAR

APC: Aktive protein C

APC-R: Aktive protein C direnci

AT: Antitrombin

BT: Bilgisayarlı tomografi

C4bBP: Tamamlayıcı 4b bağlayıcı protein

DVT: Derin ven trombozu

EKG: Elektrokardiogram

EKO: Ekokardiogram

EGF: Epidermal büyüme faktörü

EPCR: Endotelial protein C reseptörü

HCII : Heparin kofaktör II

KUS: Venöz kompresyon ultrasonografi

LA: Lupus antikoagulant

PAI-1: Plazminojen aktivatör inhibitörü-1

PAR-1: Proteaz ile aktive edilen reseptör-1

PROC: Protein C

PROC;Ag: PROC antijen

PS: Protein S

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

RBBB: Sağ dal bloğu

RDW: Kırmızı kan hücresi dağılım çapı

RFLP: Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi

SNP: Tek nükleotid polimorfizmi

SR: Duyarlılık oranı

TAFI: trombin aktive fibrinoliz inhibitörü

TFPI: Doku faktör inhibitör yolu

tPA: doku plazminojen aktivator

VTE: Venöz tromboemboli

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Venöz tromboembolizm (VTE), hematolojik hastalıklar arasında sık görülen, birçok nedene bağlı olarak gelişebilen ve ölüme yol açabilen; ancak önlenmesi mümkün olan bir hastalıktır (Periard ve ark., 2006; Cohen ve ark., 2007). 13. yüzyılda yayınlanan ilk VTE olgusundan bu yana insanların daha hareketsiz bir hayat yaşamaya başlamalarından dolayı, bir zamanlar çok nadir olarak görülen bu hastalık, bugün damar hastalıkları içinde en yaygın olanı haline gelmiştir. VTE, farklı yerleşimlerde olabilmesi, tekrarlayan ataklarla seyrebilmesi, geç dönem komplikasyonlarıyla hastanın yaşam kalitesini düşürebilmesi, ayrıca yapılan sağlık harcamaları nedeniyle ülke ekonomisine de olumsuz etkileri açısından önem arz etmektedir (Cohen ve ark., 2007).

VTE, venöz sistem içinde fizyolojik gereksinim olmaksızın pıhtı oluşmasıdır (De Stefano ve ark., 1996). VTE, klinikte en sık olarak derin ven trombozu (DVT) ve pulmoner emboli ile karşımıza çıkar (Deitelzweig ve ark., 2004; Cohen ve ark., 2007). Daha nadir olarak da diğer vasküler yapılarda trombüs gelişimi görülebilir. VTE'lerde etiyolojik faktörler; primer (Antitrombin III eksikliği, protein C eksikliği, protein S eksikliği... vb.) ve sekonder (hareketsizlik, obezite, malignansi, cerrahi... vb.) olarak tanımlanır (Periard ve ark., 2006). Çoğunlukla alt ekstremitelerin derin venlerinde oluşan trombüsler o ekstremiteler ile ilgili lokal yakınmalara neden olabilmekte, bazen de kopup dolaşıma karışarak pulmoner arterlere ya da dallarına ulaşır, bu damarları tıkayarak ölümcül bir komplikasyon olan pulmoner emboliye yol açabilmektedir. Pulmoner embolisi olan hastaların en az %70'ine çoğunlukla belirtisiz olan alt ekstremiteler ven trombozları eşlik etmektedir. Örneğin, proksimal ven trombozu, femoral

ven trombozu olan hastalarda %10 belirtili, %50 ihtimalle de sessiz pulmoner emboliler şeklinde ortaya çıkmaktadır (Silversitein ve ark.,1998; Righini ve ark., 2006).

VTE ve onun embolik komplikasyonları akut iskemik kalp hastalığı ve inmeden sonra en sık izlenen kardiyovasküler hastalıktır. Her 100 kişiden 2 ile 5 kadarının ömürleri boyunca en az bir kez VTE geçirdikleri tahmin edilmektedir. VTE'nin yıllık insidansının akut miyokard infarktüsünün yaklaşık yarısı kadar olduğu belirlenmiştir (Silversitein ve ark.,1998; Kroegel ve ark., 2003; White ve ark., 2003; Cushman ve ark., 2007). Venografi ile kalça cerrahisi yapılan hastaların yaklaşık yarısında hiç belirti olmadığı halde ven trombozu saptanabilmektedir. Belli hasta gruplarında DVT'nin bu derece sık saptanması ve VTE'nin sessiz seyredebilmesi hastalık sıklığının belki de tahmin edilenden çok daha fazla olduğunu düşündürmektedir (Silverstein ve ark., 1998).

Etnik kökenin pulmoner emboli gelişiminde genetik risk faktörleri ile birlikte önemli rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Faktör V Leiden ve koagulasyon faktör II gen mutasyonlarının Avrupa ve Amerika'da VTE ile ilişkili iki ana kalıtsal faktör olduğu kabul edilmiştir (Rosendaal ve ark., 1998; De Stefano ve ark., 1999). Ancak bu mutasyonlar Asya toplumlarına göre Avrupa'da çok nadirdir (Lu ve ark., 2002). Pulmoner embolinin moleküler mekanizmasının farklı toplumlarda farklı olduğu gösterilmiştir (Zhu ve ark., 2014).

Protein C (PROC), bir zimojen olarak karaciğer hücreleri tarafından sentezlenen ve salgılanan K vitaminine bağımlı bir serin proteazdır. Aktive PROC'un kan pıhtılaşma yolağının düzenlenmesindeki rolü, faktör Va ve faktör VIIIa üzerine kofaktör protein S (PS) ile birlikte proteolitik etki göstermesidir. Ayrıca, PROC proteolitik olarak doku plazminojen aktivatör inhibitör 1 inaktivasyonu ile plazma doğal

fibrinolitik aktivitesini artırır (Foley ve ark., 2012). Kalıtsal PROC eksikliğinin hiperkoagulabilite durumuna neden olduğu, ilk kez 1981’de Griffin ve arkadaşları tarafından açıklanmıştır. Bir otozomal kalıtsal bozukluk olarak, kalıtsal PROC eksikliği, *PROC* geninde; yanlış anlamlı mutasyon, anlamsız mutasyon, çerçeve kayması mutasyonları ve splay bölgesi anormalliklerini içeren çok çeşitli mutasyonlardan kaynaklanabilmektedir. Bu genetik değişimler sonucu oluşan PROC varyantları, yabancı tip ile karşılaştırıldığında çoğunlukla önemli hücre içi bozulmalara ve mutasyona uğramış etkisiz PROC salgılanmasına (Sugahara ve ark., 1994; Naito ve ark., 2003) veya fonksiyonel olmayan PROC salgılanmasına yol açar (Yang ve ark., 2014).

PROC eksikliğinin klinik tanımı, genç yetişkinlerde belirgin bir sebebi olmadan görülen artmış VTE komplikasyon riskinden dolayı değişkendir (Yang ve ark., 2014). Kalıtsal PROC eksikliğinin tahmini sıklığı %0,2-0,5 olarak rapor edilmiştir (Esmon, 1987; Miletich ve ark., 1987). PROC eksikliği ile etkilenen birçok bireyde heterozigot mutasyon yaşam için asemptomatik kalır (Miletich ve ark., 1987; Zhu ve ark., 2014). Semptomatik PROC eksikliğinin popülasyondaki yaygınlığı tahmini 1:16 000 ve 1:36 000 arasındadır (Formstone ve ark.,1996). PROC eksikliği tanısında başlıca plazma protein PROC;Ag ve PROC;A seviyesi değerlendirilir. Fenotipik olarak, PROC eksikliği 2 tipte sınıflandırılabilir. Tip I eksiklik, daha yaygın olup eş zamanlı PROC;A ve PROC;Ag seviyesi azalması ile karakterizedir. Tip II eksiklikte PROC;A büyük ölçüde azalır ve PROC;Ag miktarına paralel değildir (Yang ve ark., 2014).

PROC, kromozom 2q13-2q14’te (Patracchini ve ark., 1989) yerleşik olup 11 kb uzunluğunda, 9 ekzon ve 8 introndan oluşan bir gendir (Griffin, 2000). Öncü PROC

proteini, 42 amino asitlik bir lider dizi, 155 amino asitlik hafif zincir, Lys-Arg dipeptit bağlantısı ve 262 amino asitlik bir ağır zincirden oluşur (Foster ve ark., 1985).

PROC geni 5' komşu dizisi çeşitli transkripsiyon düzenleyici bölgeler içerir. İnsan *PROC* geni 5'promotör bölgesinde farklı polimorfik noktalar tanımlanmıştır (Spek ve ark.,1994). *PROC* geninin polimorfik bölgelerinin (-1654C>T, -1641A>G ve -1476A>T) bazı ülkelerde DVT insidansı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Spek ve ark., 1995; Aiach ve ark., 1999).

Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada pulmoner embolide *PROC* geninde üç SNP araştırılmıştır. Bu üç SNP bölgesinin (-1654C>T, -1641A>G ve -1476A>T) genotip frekansları ile -1654C>T polimorfizminin, allel frekansları, pulmoner emboli grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermiştir. Bulgular, -1654C>T polimorfizmi, TT genotipinin Çin popülasyonunda pulmoner emboliye yatkınlık ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (OR: 2.245, %95 CI, 1.252-4.027). T allelinin pulmoner emboli için risk faktörü olduğu ve C allelinin koruyucu faktör olduğu bulunmuştur (Zhu ve ark., 2014).

Bu çalışmada, *PROC* geni -1654C>T polimorfizminin Türk popülasyonunda pulmoner emboli ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PULMONER EMBOLİ

Kan birçok hayati işlev gerçekleştirmek için sağlam kan damarları içinde (venler, arterler ve kapillerler) vücutta sirküle olan bir akışkandır. Mükemmel performans için; kan, kan damarları içinde kesinti olmadan kolayca akmalıdır. Kan damarları yara alırsa ya da delinirse, kan dışarı akacak ve kaybolacaktır; bu da öldürücü olabilmektedir. Bunun önlemesi, çeşitli doğal fizyolojik süreçler ile sağlanır. Genellikle kan pıhtısı, delinmeyi engellemek ve kan kaybını önlemek içindir (bu süreçler hemostaz olarak adlandırılır). Kan damarları, hem trombositler olarak adlandırılan özel kan hücreleri, hem de pıhtılaşma faktörleri olarak adlandırılan özel kan proteinleri içerir. Hemostazın görevi yaralı kan damarlarından kan kaybını önleyip sağlam kan damarları içinde akışkanlığı sağlamaktır (Escobar ve ark., 2002; Laffen&Manning, 2002a).

Vücuttaki diğer fizyolojik süreçler gibi hemostaz, birçok nedenden dolayı anormal olabilir ve iyi çalışması mümkün olmayabilir. Bu nedenle kan pıhtı yapamaz hale gelir, kanama problemleri görülür (hemofili). Diğer yandan, hemostaz, yaralanma olmadan, kan pıhtısı şeklinde damar içinde (intravasküler trombus) ortaya çıkabilir ki, bu durum, damar içinde kan akışının kısmen ya da tamamen bloke olmasına yol açar. İnvasküler trombus, çoğunlukla alt ekstremitelerde derin venlerinde oluşur, üst ekstremitelerde daha az ölçüdedir ve bu patolojik duruma DVT denir. Bir trombus olduğu yerden ayrılırsa (emboli denir), genellikle dolaşıma girer ve akciğerlerde bir arteriyel damara yerleşir, pulmoner emboliye neden olur. DVT ve pulmoner emboliye birlikte VTE denir. VTE, 1/1000 insidansıyla birçok ülkede yüksek morbidite ve mortalite oranıyla ciddi vasküler bir bozukluktur (Jadaon, 2012).

2.1.1. Pulmoner Emboli'nin Epidemiyolojisi

Tüm pulmoner emboliler başka bir yerde venöz tromboz olarak başlar. Pulmoner embolinin en yaygın kaynakları pelvik venler veya uyluğun derin venleridir (Hirsh ve ark., 1996). Bacaklar, pelvis veya kolların derin venlerinde trombus ortaya çıkabilir ve bu pulmoner arterlerde emboliye sebep olabilir. Pıhtı, pulmoner arterleri tıkar ve bu durum, pulmoner vasküler dirençte bir mekanik artışa neden olur. Ek olarak, serbest vazoaktif maddeler pulmoner vasküler direnci ayrıca yükseltir (Kline ve ark., 2004).

VTE, dünya çapında yaygın bir sorundur (Leizorovicz ve ark., 2005). Birleşik Devletlerde (ABD) yıllık 300 000 gibi çok sayıda insan akut pulmoner emboliden ölmektedir (Silverstein ve ark., 1998; Heit ve ark., 2005) ve tanı ancak otopside konmaktadır (Sandler ve ark., 1989). Tromboemboli, taburcu sonrasına kadar sıklıkla ortaya çıkmasına rağmen, yatan hastalar yüksek risk altındadır (Tapson, 2008).

VTE, erkeklerde daha yaygındır ve yaşla birlikte görülme sıklığı artmaktadır. Silverstein ve ark.'larına (1998) göre pulmoner emboli insidansı her 10 yıllık yaş artışı sonucu iki katına çıkmaktadır. Tedavi edilmeyen pulmoner embolinin ölüm oranı %30 gibi yüksektir. Sağ taraflı kalp yetmezliği genelde pulmoner emboliden ölüm nedenidir ve sağ ventrikül fonksiyon kaybı olası olumsuz sonucu ile son derece önemlidir (Goldhaber, 2002). Normal sağ ventrikül fonksiyonu ile karşılaştırıldığında sağ ventrikül fonksiyon kaybı hastalarında ölüm oranı bir yılda üç kat artmaktadır. Kronik pulmoner hipertansiyon hastalarının yaklaşık %4'ünde ilk atağından sonraki iki yıl içinde pulmoner emboli görülür (Pengo ve ark., 2004).

2.1.2. Pulmoner Emboli'nin Semptom ve Belirtileri

VTE'lerde klinik tablo tanıya ulaşmada özgül değildir. Olguların yaklaşık %50 kadarında klinik bulgular siliktir. Derin ven trombozunda klinik klasik semptom olarak, etkilenen ekstremitede şişlik, ağrı, renk değişikliği görülür. Trombozun yeri ile semptomların lokalizasyonunun birbiri ile korelasyonu olmayabilir. Özellikle proksimal venlerin etkilendiği durumlarda semptomlar baldır bölgesindedir; fakat tüm bacakta da semptomlar olabilmektedir. Klinik incelemede ise etkilenen ven trasesinin palpe edilebilir olması, tek taraflı ödem (gode bırakabilir), sıcaklık artışı, yüzeysel venlerin dilate görünümü olabilmektedir.

DVT'den şüphelenilen hastaların semptomlarının duyarlılık, özgüllük ve doğruluğu sırasıyla ödemde, %97, 33 ve 70; ağrıda, %86, 19 ve 58; sıcaklık artışında, %72, 48 ve 62 olarak saptanmıştır (Sandler ve ark., 1984). Literatürde DVT şüphesi ile başvuran hasta grubunda yapılan iki büyük çalışmada hastaların yalnızca %17 ve 32'sinde gerçekten DVT saptanmıştır (Birdwel ve ark., 1998). Semptomların özgüllüğü düşüktür ve bu noktada ayırıcı tanıları önem kazanmaktadır. Venöz yetmezlik ve kas-iskelet sistemi bozuklukları ayırıcı tanıda esas alınması gereken hastalıklardır. Bacak ağrısı ile başvuran ve venografisi normal olan 160 hastalık bir seride %40 oranında bacağın kas gerilmesi, yırtık ve bükmeyle bağlı zedelenmeleri, %9 paralize bacakta şişlik, %7 lenfatik obstüksiyon, %7 venöz yetmezlik, %5 Baker's kisti, %3 selülit, %2 diz anomalileri, %26 bilinmeyen nedenler saptanmıştır (Hull ve ark., 1981).

Pulmoner emboli tanısı alan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada; en yaygın görülen semptomlar istirahat veya egzersizle olan dispne %73, plöretik ağrı %44, öksürük %34, ortopne %28, baldır veya uylukta ağrı %44, şişlik %41, whezing %26 olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada yaygın görülen bulgular ise taşipne %54, taşikardi

%24, ral %18, azalmış solunum sesleri %17, S2'nin belirginleşmesi %15 ve juguler venöz distansiyon %14 olarak belirtilmiştir (Stein ve ark., 2007).

2.1.3. Pulmoner Emboli'nin Risk Faktörleri

Pulmoner emboli için risk faktörleri karmaşıktır. Bununla birlikte, PROC'un pulmoner embolide önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Spek ve ark., 1994; Aiach ve ark., 1999; Horlander ve ark., 2003).

2.1.3.1. Pulmoner Emboli İçin Genetik Risk Faktörleri

Vücutta üretilen bütün proteinler gibi pıhtılaşma faktörleri, pıhtılaşma ve koagülasyon sürecindeki diğer proteinler, insan hücrelerinde DNA'daki genler tarafından kodlanmaktadır. Herhangi bir genetik anormallik bu proteinlerin az üretmesine veya hiç üretilmemesine veya normal miktarda olmasına rağmen anormal yapılı molekül üretimi ve/veya fonksiyonuna yol açabilmektedir. Bu bozuklukların çoğunun VTE nedeni olduğu bulunmuştur. Örneğin, genetik bozukluklar doğal koagulanların düşük üretimine ve bu nedenle koagülasyon süreci üzerinde olumsuz etkiye neden olabilir. Bu, genellikle koagülasyon oranında bir artışa yol açar. Diğer yandan doğal koagulanlar normal üretilir, ama kendi hedefleri üzerinde normal fonksiyonları kullanamazlar ve bu nedenle hiperkoagülabilite ve VTE görülebilir. Ayrıca, belli genetik bozukluklar pıhtılaşma faktörlerinin fazla üretimini önemli ölçüde etkileyebilir. Fibrinoliz sürecindeki anomaliler pıhtı uzaklaştırma etkinliğini düşürebilir, pıhtı birikimine ve tromboz oluşumuna yol açar (Jadaon, 2012).

Antitrombin (AT) Eksikliği

Tarihte, koagülasyon sisteminde kalıtsal kusurlarla birlikte venöz tromboz vakalarını, yani kalıtsal antitrombin (AT) eksikliğini, ilk kez Egeberg (1965)

ilişkilendirmiştir. AT, trombin için bir inhibitördür ve inhibisyon aktivitesi, büyük oranda heparin tarafından artırılır. AT eksikliği trombin üzerindeki kontrolün azalmasına sebep olur ve bu yüzden koagulasyon işlevi çok aktif hale gelerek (hiperkoagubilité) VTE'ye neden olur. AT eksikliği olan olgularda, trombin üzerindeki azalmış kontrol, bir fibrinoliz inhibitörü olan trombinle aktive olan fibrinoliz inhibitörü (TAFI) üzerinde pozitif etkiye sebep olup bu hastalarda hiperkoagubilité durumunu artırabilir (Jadaon, 2012).

Kalıtsal AT eksikliği, farklı populasyonlarda bulunmuştur ve 500-5000'de bir prevalans ile trombotik olguların %1-5'inde gözlemlenmiştir (Jadaon, 2012). Otozomal dominant kalıtımın VTE gelişim riskini 10 kat artırdığı rapor edilmiştir (Dahlbäck, 2008). AT eksikliği iki ayrı tipe ayrılabilir. Tip I (kantitatif; düşük miktar) ve Tip II (kalitatif; anormal fonksiyon). Tip II AT eksikliği ayrıca anormal işlev türüne göre üç alt tipe bölünmüştür; trombin inhibisyonunu etkileyen, heparin bağlayıcılığını etkileyen veya her ikisini de etkileyen 80'den fazla genetik anomali (yanlış anlamlı, anlamsız, delesyon), AT eksikliği nedeni olarak bildirilmiştir (Bertina, 1997; Ehsan ve Plumbley, 2002; Dahlbäck, 2008). Kalıtsal AT eksikliği olan hastaların yarısından fazlası 40 yaşından daha az bir yaşta VTE'den zarar görmektedir (Finazzi ve ark., 1987). Mevcut durumlar homozigot AT eksikliğinde rapor edilmemiştir, çünkü kanda tam AT yokluğunun yaşama bağdaşmamaktadır (Dahlbäck, 2008).

Protein C (PROC) Eksikliği

PROC ve aktif formu APC, pıhtılaşma kofaktörleri V ve VIII'i inaktive eder ve bu nedenle koagulasyon sürecinde aşağı düzenleyicidir. Bundan dolayı herhangi bir PROC anomalliği, sürekli çalışan kofaktörler V ve VIII'e yol açabilir ve bu durum da VTE'ye neden olur. PROC eksikliğinde VTE'ye neden olabilecek diğer yol, fibrinoliz

sürecindeki etkileşimi ile gerçekleşir. Aktif plazminin varlığından sorumlu olan doku plazminojen aktivatör (tPA)'ün bir inhibitörü olan plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1), genellikle PROC'u inhibe eder. Bu yüzden PROC eksikliği PAI-1 üzerinde bozulmuş bir kontrole sebep olur ve bu fibrinoliz işleminin normal fonksiyonunu engeller ve bundan dolayı pıhtı birikimi ve sonunda VTE gelişebilir (Jadaon, 2012).

Genetik PROC eksikliğine sahip birkaç VTE vakası ilk kez 1981'de açıklanmıştır (Griffin, 1981). Kalıtsal PROC eksikliği otozomal dominant kalıtlıdır ancak birçok yayında ayrıca otozomal resesif olarak kalıtıldığı iddia edilmiştir (Ehsan ve Plumbley, 2002; Bereczky ve ark., 2010). Şimdiye kadar PROC eksikliğiyle ilişkili yaklaşık 250 genetik kusur rapor edilmiştir (Bertina, 1997; Bereczky ve ark., 2010). Farklı çalışmalarda PROC eksikliğin normal bireylerdeki yaygınlığı 200-16 000'de bir olarak rapor edilmiştir (Miletich ve ark., 1987; Ehsan ve Plumbley, 2002). Heterozigot PROC eksikliği taşıyanlarda PROC seviyesi %50 azalmıştır ve onlarda tromboz gelişim riski artmıştır (Jadaon, 2012). PROC eksikliği açısından homozigot olanlar, özellikle VTE tedavisi için sıklıkla kullanılan bir vitamin K antagonisti olan Warfarin ile tedavi edildiğinde, tekrarlayan VTE olayları ve deri nekrozlarından etkilenebilir (Dahlbäck, 2008). Homozigot PROC eksikliği olan bebeklerde genellikle çoklu mikrovasküler tromboz olarak bilinen yenidoğan purpura fulminans görülmektedir (Ehsan ve Plumbley, 2002; Dahlbäck, 2008). İki tip PROC eksikliği bulunmaktadır: Tip I eksiklikte; PROC'un düzeyi ve işlevi anormaldir ve Tip II eksiklikte, PROC'un seviyesi normal ama fonksiyon arızalıdır. Tip I eksiklik daha yaygındır ve tekrarlayan trombüs vakalarında %1-4 olduğu bulunmuştur. Tip II PROC eksikliği ise olguların %10-15'inde mevcuttur (Ehsan ve Plumbley, 2002; Bereczky ve ark., 2010).

Protein S (PS) Eksikliği

PS, pıhtılaşma kofaktörleri V ve VIII'in APC tarafından inaktivasyon işleminde kofaktör olarak görev alır ve bu işlemi 10 kat artırır (ten Kate ve van der Meer, 2008). PS, tamamlayıcı 4b bağlayıcı protein (C4bBP)'e karşı yüksek bir afiniteye sahiptir. C4bBP'ye bağlanan PS inaktif hale gelir ve sadece serbest PS aktiftir. Normal olarak, PS konsantrasyonu C4bBP'den yüksektir ve bu yüzden sadece PS'nin %60'ı C4bBP'ye bağlı olarak inaktif halde bulunurken %40'ı serbest olarak aktif PS halinde bulunur (Ehsan ve Plumbley, 2002; Laffan ve Manning, 2002b). Kalıtsal PS eksikliğiyle ilgili ilk vaka 1984'te kaydedilmiştir (Comp ve Esmon, 1984). Otozomal dominant kalıtsal PS eksikliği venöz tromboz hastalık riskini 3-11 kat artırmaktadır (Ehsan ve Plumbley, 2002; ten Kate ve van der Meer, 2008; Berezky ve ark., 2010). PROC'un eksikliğine benzer olarak, PS eksikliği için homozigot olgularda neonatal purpura fulminans oluşumu için ve warfarin ilişkili cilt nekroz oluşumu için eğilim vardır. Ek olarak, PS eksikliği fetal kayıp ile bağlantılıdır. PS geninde, yarısı yanlış anlamlı mutasyon, beşte biri delesyon ya da insersiyon olmak üzere, 200'den fazla anormallik PS eksikliği nedeni olarak belirtilmiştir (ten Kate ve van der Meer, 2008). PS eksikliğin genel popülasyonda yaygınlığı %0,03- 0,2 ve VTE hastalarında %1-3'tür. Üç tip kalıtsal PS eksikliği vardır. Tip I eksiklikte toplam ve serbest PS seviyesi normalden düşüktür. Tip II PS eksikliği, PS'nin işlevsiz türü olup, PS düzeyi normal kalmaktadır. Üçüncü tip (Tip III) ise hafif PS eksikliğiyle karakterizedir ve bu daha az serbest PS seviyesini yansıtır. Tip II eksiklik kalitatif tip iken Tip I ve Tip III eksiklik kantitatif tipte PS eksikliğidir. Kalıtsal PS eksikliğin çoğunluğu Tip I iken, %5-15'i Tip II'dir (Jadaon, 2012).

Doku Faktör İnhibitör Yolu (TFPI) Eksikliği

TFPI, faktör Xa varlığında TF-VIIa kompleksini inhibe eden bir proteazdır. Böylece koagulasyonun dışsal yolunu düzenler. TFPI'nın çoğunluğu lipoproteinlerle kombinasyon halindeyken, sadece %10'u kanda serbest aktif form olarak bulunmaktadır. TFPI eksikliği bir hiperkoagulabilite durumuna ve bu nedenle VTE'ye yol açabilmektedir (Ehsan ve Plumbley, 2002). Oral kontraseptif kullanan kadınlarda ve paroksizmal nokturnal hemoglobinüri hastalarında TFPI'nın aktivitesinin azalmasının, trombüs gelişimine neden olduğu fark edilmiştir (Maroney ve Mast, 2008).

Heparin Kofaktör II (HCII) Eksikliği

HCII, ilk olarak 1980'li yılların başlarında tespit edilmiştir (Tollefsan ve Blank, 1981). HCII özellikle AT'ye daha az bir afinite ile bağlanarak trombini inhibe eder ve bu nedenle trombinin bir ikinci hat inhibitörü olarak kabul edilmektedir (Ehsan ve Plumbey, 2002). HCII eksikliği olan bir dizi olguda VTE olduğu bildirilmektedir, ancak birçok durumda asemptomatik kalmıştır (Jadon, 2012).

Disfibrinojenemi

Fibrinojen, kromozom 4'te üç gen tarafından kodlanan bir proteindir. Fibrinojen genlerinin genetik anormallikleri hastalarda kanama problemlerine, fibrinojenin düşük üretimine (kantitatif kusurlar) veya üretilmemesine sebep olabilir. Diğer yandan, diğer genetik anormallikler anormal bir yapı ve/veya fonksiyona sahip fibrinojen moleküllerinin üretimine yol açabilmektedir (kalitatif kusur). Bu tür anormallikler, olumsuz trombin, fibrin molekülleri polimerizasyonu veya plazmin tarafından fibrinolitik inaktive ile fibrinojenin bağlayıcılığını etkileyebilmektedir. Bu "Disfibrinojenemi" olarak bilinen durumdur ve otozomal dominant veya resesif formu vardır (Jadon, 2012). Disfibrinojenemi ilk kez 1965 yılında rapor edilmiştir (Beck ve

ark., 1965). Olguların yaklaşık %60'ı klinik olmayan verileri gösterirken, %20'si kanama sorunları, %20'si trombüs gösterir. Disfibrinojenemi ile ilişkili fibrinojen genini etkileyen en az 15 farklı genetik bozukluk bulunmaktadır (Jadon, 2012).

Yükseltilmiş Pıhtılaşma Faktörleri

Birkaç VTE vakasının, pıhtılaşma faktörleri VIII, IX, XI ve XII fibrinojen ve protrombinin yüksek seviyeleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Yükseltilmiş protrombin, çoğunlukla, protrombin genindeki genetik mutasyonla ilişkilidir. Hiperfibrinojenemide de artmış tromboliz direnci olduğu bulunmuştur ve bu VTE ile olan ilişkinin çoğunluğunu açıklar (Jadon, 2012).

Protrombin G20210A Mutasyonu

1996'da, Poort ve ark.'ları tarafından açıklanamayan VTE'si olan hastalarda kromozom 11 üzerinde bulunan protrombin geninin kapsamlı DNA'sının dizi analizi yapılmıştır. Protrombin geninin 3' transle edilmeyen bölgesinde 20210. nükleotid pozisyonunda tek bir yanlış anlamlı mutasyon (guanin, adenin; G→A) keşfedilmiştir. Mutasyonlar protrombin için kodlama bölgesi dışında mevcut olduğu için, protrombin molekülünün yapısı etkilenmez. Ancak, protrombin G20210A mutasyonunun, plazma protrombininin (üçte biri normalin üzerinde yüksek; %133) yüksek seviyeleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur ve bu nedenle hiperkoagulabilite ve VTE'nin gelişiminde risk oluşturmaktadır (2 ile 4 kat) (Jadon, 2012). Aslında, %115 daha fazla protrombin düzeyinin, VTE'nin gelişim riskini 2 kat artırdığı gösterilmiştir (Poort ve ark., 1996). Ceelive ve arkadaşları (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, protrombin G20210A mutasyonunun mRNA ve protein ifadesinin artmasına neden olduğu gösterilmiştir. Diğer bir husus ise artan protrombin düzeyinin, TAFI denen fibrinoliz inhibitöründe bir artışa yol açabilir olmasıdır. Beyaz ırkta, protrombin G20210A mutasyonu, sağlıklı

populasyonlarda %1-4 ve VTE'li hastalarda %6-8 olarak bildirilmiştir. Protrombin G20210A mutasyonu Doğu Asya ve Afrika populasyonlarında ve Amerika ve Avustralya yerli topluluklarında çok nadirdir veya yoktur (Jadon, 2012).

Fibrinoliz Hataları

Fibrinoliz, intravasküler pıhtı uzaklaştırılması için gerekli bir süreçtir. Bu nedenle, sürecin kusurları trombüs gelişimine uygun bir ortam sağlayabilmektedir.

Fakat, yüksek risk değerlerine sahip olan VTE'li birçok hastada azalmış fibrinoliz etkinliği (hipofibrinoliz) gözlenmiş olması gerçeğine rağmen ortada henüz net ve kesin bir kanıt yoktur (Laffan ve Manning, 2002b). Örneğin, plazminojen kusurları, hatalı fibrinoliz, fibrin pıhtısının kaldırılmasını engeller ve dolayısıyla trombüs birikimine neden olur. Kalıtsal plazminojen eksikliğinin iki tipi vardır: Tip I eksiklik hipoplazminojenemi (kantitatif) ve Tip II eksiklik displazminojenemi (kalitatif), herikisi de birçok mutasyondan kaynaklanır ve otozomal dominant kalıtsal hasar olduğu düşünülmektedir. Hipoplazminojenemi, mukoz membranlarda pseudomembran hastalıklarına yol açan yara iyileşmesi sırasında anormal fibrinin uzaklaştırılması ile ilişkili iken, displazminojenemi muhtemelen hiçbir klinik belirtisi olmayan sadece sessiz bir polimorfizmdir. Aynı zamanda kalıtsal plazminojen eksikliğı tromboz hastalarının %2-8'inde bulunmuştur (Jadaon, 2012).

Aktive PROC Direnci (APC-R) ve Faktör V Leiden Mutasyonu

APC-R, ilk olarak 1993 yılında tanımlanmıştır. APC'nin plazmada düşük antikoagulan tepkisi olarak tanımlanmıştır (Dahlback ve ark., 1993). APC-R fenotipi (APC-duyarlılık oranı (SR)<2.17) sıklıkla trombüs hastalarında görülmektedir. Koster ve ark.'ları ilk kez 1993'te bu fenotipi DVT için risk faktörü olarak rapor etmiştir (OR;6.65 [95CI 3.6-12.0]). 1994'te APC direnci olan olguların %80'inden fazlasının

faktör V geninde aynı mutasyonu (ekzon 10 da 1691'inci noktada G>A değişimi, faktör V molekülünde Arg506Gln değişimi, faktör V Leiden) taşıdığı rapor edilmiştir. Faktör V mutasyonu taşıyanların hepsinde APC-SR: ≤ 1.8 'dir. İlginç olarak, Arg506 faktör Va'da APC'nin üç kesim bölgesinden (Arg 306, Arg 506 ve Arg679) birinde yerleşiktir. Faktör Va Leiden'in APC ile inaktivasyonunun, normal faktör Va ile karşılaştırıldığı sonraki biyokimyasal çalışmalar, Arg506Gln yer değiştirmesinin faktör Va aktivitesinin inaktivasyonunu geciktirdiği gösterilmiştir (Xa kofaktör aktivitesi) (Kalafatis ve ark., 1995).

APC direnç fenotipinin sadece VTE'li hastalar arasında yaygın olmadığı, aynı zamanda sağlıklı kontroller arasında da oldukça sık olduğuna dair ilk gözlemler, daha sonra faktör V Leiden mutasyonunun genetik testleri ile doğrulanmıştır (Bertina, 1997).

DVT riskinde heterozigotlarda 7.9 kat (%95 CI, 4.1-13), homozigotlarda 91 kat (%95 CI, 26-322) artış olduğu tespit edilmiştir. Dahası, faktör V Leiden taşıyıcılarında tekrarlayan trombotik olayların sıklığı, faktör V Leiden taşımayanlardan daha yüksektir (Bertina,1997).

2.1.3.2. Pulmoner Emboli İçin Kazanılmış Risk Faktörleri

Genellikle 40 yaş üstünde VTE ile ilişkili çeşitli kazanılmış risk faktörleri vardır (Jadon, 2012).

Lupus Antikoagulantlar (LA)

Kanama problemleri, ilk kez sistemik lupus eritromatoz (SLE) hastalarında tanımlandığından 1972'de lupus antikoagulantlar (LA) ismi verilmiştir. Ancak, daha sonra, kanama olmadan, VTE ile LA ilişkisi doğrulanmıştır ama isim devam etmiştir. Aslında, LA öncülüğünde APC inhibisyonunda, AT, fibrinoliz ve TF ekspresyonu

artışında *in vitro* kanıtlar vardır. Ek olarak, hayvan modellerinde LA'nın hiperkoabiliteye doğrudan katkısı gösterilmiştir (Jadaon, 2012).

Gebelik, Doğum ve Hormon Tedavisi

Gebelik ve doğumun (doğumdan 6 hafta sonrası), VTE'nin gelişim riskini 6 kat artırdığı rapor edilmiştir (Ehsan ve Plumbey, 2002). Gebelik sırasında VTE tanısı çok daha zor ve yanıltıcıdır. Bunun sebebi VTE'de görülebilen birçok belirti ve bulguların gebelik sırasında normal koşullarda görülebmesidir. Örneğin, nefes darlığı pulmoner embolinin en sık görülen semptomlarından birisidir ve sağlıklı gebelerde %70'e varan oranlarda görülebilmektedir. (Heit ve ark., 2005).

Oral kontraseptifler ve hormon replasman tedavisi farmakolojik dozda östrojen, faktör VIIa seviyesinde artışa ek olarak PS ve antitrombin seviyesinde baskılanmaya neden olmaktadır (Lensing ve ark., 1989). Bir çalışmada, her 10 000 oral kontraseptif kullanıcısında VTE'nin toplam risk artışı 2,9 kat; mutlak risk artışı ise 3,3 kat olarak bildirilmiştir (Koster ve ark., 1995). Farklı bir çalışmada modern (düşük doz östrojen) oral kontraseptif kullanımının 3-6 kat daha VTE rölatif risk artışıyla ilişkili olabileceği, hormon replasman tedavisi ve selektif östrojen modülatörleri (SERM) kullanımının VTE'deki rölatif riski 2-4 kat artırdığı bildirilmiştir (Lensing ve ark., 1989).

Diğer Kazanılmış Risk Faktörleri

Yaşlılıkta fiziksel aktivitenin azalması, bacakların alt bölümünde venler üzerindeki kasların sağıcı etkisini azaltıp venöz dönüşün azalmasına neden olmaktadır. VTE insidansının 55 yaş civarında dramatik olarak artmaya başladığı ve bu artışın 80'li yaşlarda her yıl için yaklaşık %1'lik orana ulaşarak 45 yaş ile karşılaştırıldığında riskin 1000 katı bulunduğu belirtilmiştir (Roy ve ark., 2007). DVT ve pulmoner emboli insidansının yaşla beraber katlanarak arttığı; DVT yıllık insidansının 40-49 yaş arasında

her 100 000 kişinin 17'sinde; 70-79 yaş arasında da 232'sinde görüldüğü bildirilmiştir (Anderson ve ark., 1991). VTE, özellikle yaşlı ve obez hastalarda, kırıklar ve kan naklinde cerrahi gibi ağır travmalarda sık görülen bir komplikasyondur. Ayrıca gastrointestinal kanserler ve ürogenital sistem ve akciğer hastalıklarıyla birlikte VTE riski daha yüksektir (Jadon, 2012).

Kanserde de; tümörün direk olarak venlere baskısı, endotel hasarı nedeniyle damar invazyonu ve prokoagulan faktör VIII ve fibrinojenin artmış sekresyonu DVT riskini artırmaktadır (Bick, 1992). Tüm kanser çeşitlerinde aynı sıklıkta VTE gözlenmemektedir. Akciğer (%25,6), pankreas (%17,6), mide (%16,8) ve kolon (%15,2) kanserlerinde risk en yüksek iken, baş boyun, mesane ve meme kanserinde risk en düşük olarak gözlenir. Buna rağmen çeşitli tümör tiplerinde VTE'nin gerçek insidansı bilinmemektedir (Rickler ve ark., 1983; Nordstrom ve ark., 1992).

2.1.4. Pulmoner Emboli Tanısı

Pulmoner emboli tanısında çeşitli tahmin kuralları kullanılmakta olup en sık kullanılan klinik tahmin kuralı, Wells ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan Kanada kuralıdır (Tablo 2.1.4.1.). Bu kuralın geçerliliği, hem 3 kategorili (düşük, orta ya da yüksek klinik olasılık) hem de iki kategorili (pulmoner emboli muhtemel ya da değil) şemalar kullanılarak, geniş ölçüde sınıanmıştır. Basittir ve kolay toplanabilen bilgiye dayalıdır. Buna karşılık, kuraldaki bir öznel maddenin ağırlığına bağlı olarak (pulmoner emboliye göre daha az muhtemel olan bir başka tanı), gözlemciler arası tekrarlanabilirliğin değişken olduğu saptanmıştır. Gözden geçirilmiş Cenevre kuralı Avrupa'da da kullanılmaktadır (Tablo 2.1.4.1.). Basit olup bütünüyle klinik değişkenlere dayanmaktadır ve standardize edilmiştir. Ayrıca, Wells kuralına göre daha

dar çerçevede olmakla birlikte, içeriden ve dışarıdan geçerliliği sınanmıştır. Hangi kural kullanılırsa kullanılsın, düşük olasılık kategorisindeki pulmoner emboli hastalarının oranı %10 civarında, orta olası olasılık kategorisindekilerin oranı %30, yüksek klinik olasılık kategorisindekilerin oranı ise %65'tir (Torbicki ve ark., 2008).

Tablo 2.1.4.1: Pulmoner emboli klinik tanısında Wells puanı ve gözden geçirilmiş Cenevre puanı

Kriterler (Wells puanı)	Puan	Kriterler (Cenevre puanı)	Puan
DVT şüphesi	3.0	Yaş \geq 65	1
Pulmoner emboli tanı olasılığı düşük	3.0	Aktif malignite	1
Kalp atışı >100 bpm	1.5	Tek taraflı alt ekstremitte ağrısı	1
Son 4 hafta içinde immobilizasyon ya da cerrahi öyküsü	1.5	Daha önce DVT/Pulmoner emboli öyküsü	1
Daha önce DVT/Pulmoner emboli öyküsü	1.5	Hemoptizi	1
Hemoptizi	1.0	Son(<4 hafta) cerrahi veya kırık	1
Malignite (tedavi, son 6 ay içinde veya palliative)	1.0	Elle muayenede alt ekstremitte derin venlerinde hassasiyet ve tek taraflı ödem	1
Geleneksel yorumlama:			
0-1: düşük, 2-6: orta, >6: yüksek risk		Kalp atışı 75-94 bpm	1
Alternatif yorumlama:		>94	2
0-4: Pulmoner emboli şüphesi olmayan, >4: Pulmoner emboli şüphesi olan		\leq2 puan: düşük risk, \geq3puan: yüksek risk	

Göğüs radyografisi (Göğüs X-ray); Göğüs X-ray'in ana yararı, pulmoner embolinin değerlendirmesinde semptomatolojiyi sunmada alternatif olmasıdır (Church ve ark., 2012).

Elektrokardiyogram (EKG) ve ekokardiyogram (EKO); EKG bulguları, akut kor pulmonale, S1, Q3, T3 gibi sağ dal blok yüklenme, P-dalga pulmonale veya sağ aks deviasyonu ağır embolide yaygındır (Tapson, 2008) fakat potansiyel pulmoner emboli hastalarının değerlendirilmesinde özgül olmayan ve sınırlayıcı değerlerdir. (Church ve ark., 2012). EKO bulguları, pulmoner emboli ortaya çıkarmada önemli bir hemodinamik destek olup potansiyel tedavi klavuzu olarak tavsiye edilir. Kalpten akciğerlere emboli hareketi bazen bu teknikle onaylanmıştır, intravasküler ultrasonografi büyük embolileri görselleştirmek için başucu yöntemi olarak kullanılmıştır (Tapson, 2008).

Arterial kan gazı analizi; Pulmoner emboli olgularında düşük PaO₂ ve normal veya düşük PaCO₂ değerleri saptanır. Hastaların %10–25'inde arter kan gazları normal bulunmaktadır (Tapson, 2008). Pulmoner emboli için daha özgül testler geliştirilmeden ve onaylanmadan önce, oksijenlenme ve alveolar-arterial (A-a) artan ve azalan oksijen gradiyenti hesaplama sık kullanılmıştır. Ancak, pulmoner embolinin değerlendirilmesinde, kan gaz analizinin duyarlılık ve özgüllüğünün yetersiz olduğu gösterilmiştir (Church ve ark., 2012).

D-dimer; D-dimer, plazmada çapraz bağlı fibrinin yıkım ürünüdür. D-dimerin hasta özelliklerine göre değişen tanısal verimi, özgüllüğüne dayanır. D-dimerin şüpheli pulmoner embolideki özgüllüğü, yaşla birlikte sürekli bir azalma gösterir ve 80 yaşından sonra \leq %10'a düşebilir (Torbicki ve ark., 2008).

Ventilasyon/Perfüzyon (V/Q) sintigrafisi; Perfüzyon sintigrafisi pulmoner embolinin dışlanmasında son derece güvenlidir. Geçerliliği daha az sınılanmış olmakla birlikte, klinik açıdan pulmoner emboli olasılığının düşük olduğu bir hastada tanı koydurmayan V/Q sintigrafisinin kombinasyonu, pulmoner embolinin dışlanmasında kabul edilebilir

bir ölçüttür. Yüksek olasılıklı ventilasyon-perfüzyon sintigrafisi, yüksek düzeyde bir olasılıkla pulmoner emboli tanısını ortaya koyar; ancak klinik açıdan olasılığın düşük olduğu seçilmiş hastalarda, yüksek olasılıklı V/Q sintigrafisi pozitif prediktif değerinin düşük olması nedeniyle, böyle hastalarda başka testler yapılması da düşünülebilir. V/Q sintigrafisi ile klinik olasılığın diğer bütün kombinasyonlarında, başka testlerin de yapılması gerekir (Torbicki ve ark., 2008).

Kompresyon ultrasonografisi ve bilgisayarlı tomografik venografi; Alt bacak kompresyon ultrasonografisi (KUS), DVT tanısında venografinin yerini büyük ölçüde almıştır. KUS, pulmoner emboli hastalarının %30-50'sinde DVT olduğunu gösterir ve pulmoner emboli şüphesi taşıyan hastalarda proksimal DVT'nin saptanması, daha fazla teste ihtiyaç duyulmaksızın antikoagulan tedaviye başlanmasını gerektirir. Bilgisayarlı tomografik (BT) venografi, tek bir intravenöz kontrast madde enjeksiyonu kullanılarak, toraks BT anjiyografi ile birlikte tek işlem halinde uygulanabildiği için, şüphe taşıyan hastalarda DVT tanısı konmasında daha basit bir yol olarak destek bulmuştur (Torbicki ve ark., 2008).

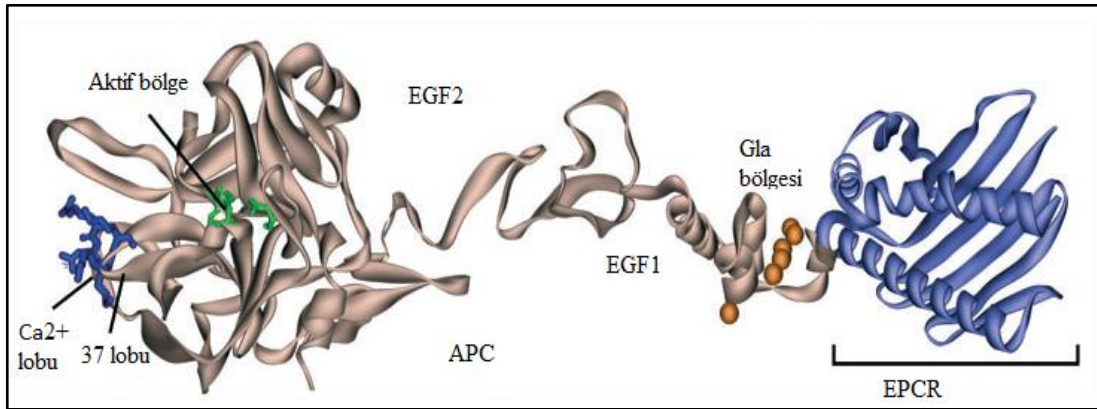
2.2. PROTEİN C (PROC)

Kan koagulasyon sistemi, plazma ve endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan kofaktörler ve pıhtılaşma önleyici proteinler tarafından düzenlenir. Normal fizyolojik koşullar altında prokoagulan ve antikoagulan mekanizmaları hassas bir dengededir ve bozuklukları kanama ya da tromboembolik sorunlara neden olabilmektedir (Svensson ve ark., 1994).

Stenflo, K vitaminine bağılı bir plazma proteinini sığır plazmasından saflaştırdığı zaman bunu "protein C" olarak adlandırmıştır (Stenflo, 1976). PROC, K vitaminine bağımlı olup 62 kD molekül ağırlığında bir glikoproteindir. Karaciğerde sentezlenir ve yarı ömrü 6-8 saattir. Trombinin endotelial bir reseptör olan trombomoduline bağlanması, PROC'un aktivasyon hızını yaklaşık 20 000 kat artırır (Dahlback, 1995a). PROC, antikoagulan sisteminin fizyolojik önemi olan bir bileşendir. Trombomodülin ve trombin kompleksi ile endotel hücrelerinin yüzeyi üzerinde aktif hale getirildikten sonra aktive protein C (APC), seçici pıhtılaşma faktörleri Va ve VIIIa ile pıhtılaşmayı engeller. PROC eksikliği için homozigot olan bebeklerde, yenidoğan döneminde purpura fulminans olarak adlandırılan yaşamı tehdit eden bir hastalık, proteinin fizyolojik önemini göstermektedir. Durum genel olarak mikrovasküler tromboz ile karakterizedir. Genç ve orta yaşlı yetişkinlerde PROC'un eksikliği venöz tromboz riskini artırmaktadır (Svensson ve ark., 1994). PS, K vitaminine bağımlı bir diğer plazma proteini olup, APC için bir kofaktör olduğu düşünülmektedir (Esmon ve ark., 1989; Dahlback ve ark., 1991) ve heterozigot PS eksikliği tromboz ile ilişkilidir (Svensson ve ark., 1994).

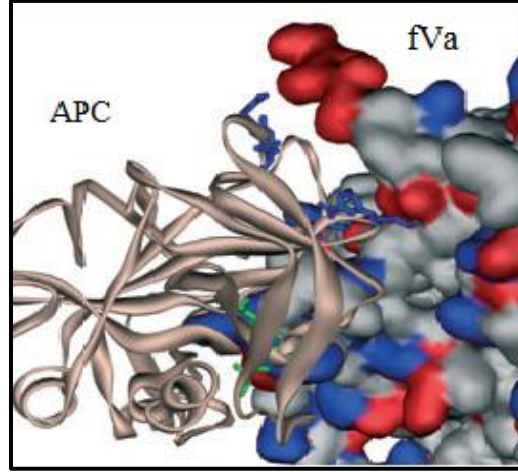
PROC plazma konsantrasyonu 70 nM, aktive formu APC'nin ise, 40 pM'dır. Yetişkin insanda PROC proteini 419 amino asitten oluşur. Post-translasyonel modifikasyonlar, Asp71'de β -hidroksilasyon, 97,248,313 ve 329 rezidülerinde N-bağımlı glikozilasyon ve amino ucundaki dokuz glutamik asit rezidüsünü dokuz Gla rezidüsüne dönüştüren gamma-karboksilasyonunu içerir. PROC domainleri, Gla domaini (1-37 rezidüleri), iki epidermal büyüme faktörü (EGF) benzeri bölge (EGF-1, 46-92 rezidüleri ve EGF-2, 93-136 rezidüleri), bir aktivasyon peptidi (158-169 rezidüleri) ve enzimatik serin proteaz domainlerinden (170-419 rezidüleri) oluşur.

Zimojenin Arg 169'da, trombin ile kesimi aktivasyon peptidini uzaklaştırır ve APC oluşturur. Çeşitli prokoagulan plazma faktörlerinin aksine, APC, antikoagulan ve hücre koruyucu aktivitelere sahiptir. Gla domaini, pıhtılaşma önleyici aktivitesiyle lipidlerin hızla bağlanmasına ve sitoprotektif aktiviteyi hızlandıran endotel protein C reseptörünün (EPCR) bağlanmasına aracılık etmektedir (Şekil 2.2.1 ve Şekil 2.2.2) (Griffin ve ark., 2007).



Şekil 2.2.1: APC aktivitesine aracılık eden APC ekzosit yapısı (Griffin ve ark., 2007).

Aktif bölgeye uzak olan APC'nin yüzeyi üzerindeki amino asit dizileri, kofaktörler ve alt tabakalar ile APC etkileşimlerinin olduğu bölge 'ekzosit' olarak adlandırılır (Şekil 2.2.1). Çalışmalarda, faktör Va inaktivasyonu için kritik olan proteaz domaininde pozitif yüklü ekzosit tanımlanmıştır (Griffin ve ark., 2007).



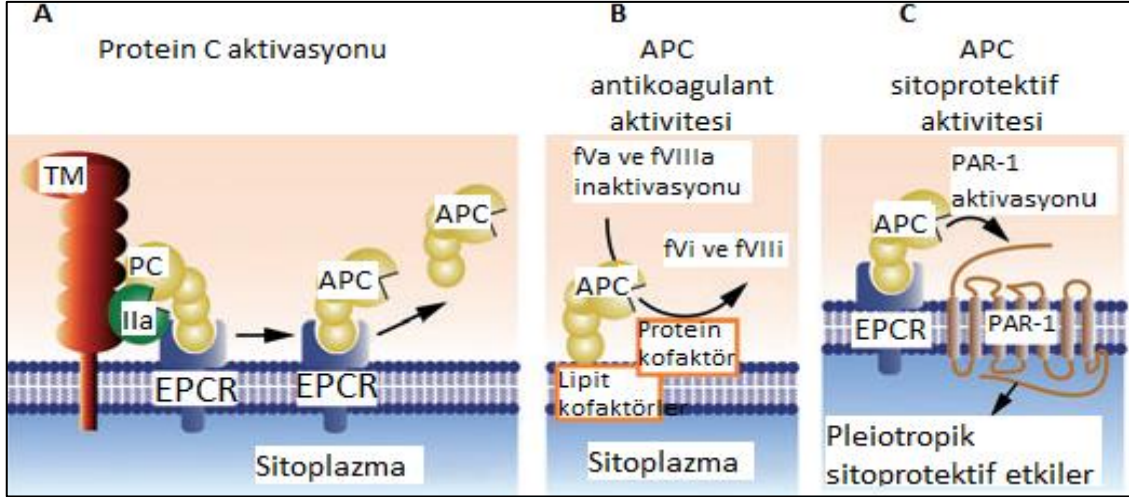
Şekil 2.2.2: Özgün ekzosit 37-ilmek ve kalsiyum bağlı ilmeğin birlikte yan yana şematik olarak gösterimi (Griffin ve ark., 2007).

PROC'un fizyolojik rolleri belirgindir. Çünkü, homozigot PROC eksikliği olan bebeklerde ağır, genellikle öldürücü trombotik komplikasyonlar ortaya çıkar ve de heterozigot eksikliği olan yetişkinler VTE için artan risk gösterir. APC'nin ayrılma bölgesi mutasyonu (Arg506, Gln, Faktör V Leiden) ilgili ikinci risk geniş ölçüde kabul edilmektedir (Griffin ve ark., 2007). Farelerde %1-18 PROC düzeyleri büyüme ve doğuma izin verirken; PROC açısından nakavt fare çalışmalarında perinatal ölüm görülmüştür (Castellino, 2001). Düşük PROC seviyesine sahip farelerde erken başlangıçlı tromboz ve inflamasyon belirmiştir (Griffin ve ark., 2007).

Antikoagulant ve Sitoprotektif PROC Yolu

Hücre yüzeylerindeki biyokimyasal reaksiyonlar, PROC aktivasyonu, APC ekspresyonu antikoagulant aktivitesi ve APC'nin sitoprotektif işlemleri başlatmasını içermektedir (Şekil 2.2.3A-C). PROC'un trombin tarafından normal aktivasyonu, iki membran reseptörü, trombomodülin ve EPCR gerektirmektedir.

APC'nin antikoagulant işlevleri; faktör Va ve faktör VIIIa'nın geri dönüşü olmayan proteolitik inaktivasyonu içerir (Şekil 2.2.3B) (Griffin ve ark., 2007).



Şekil 2.2.3: PROC aktivasyonu ve APC aktiviteleri (Griffin ve ark., 2007).

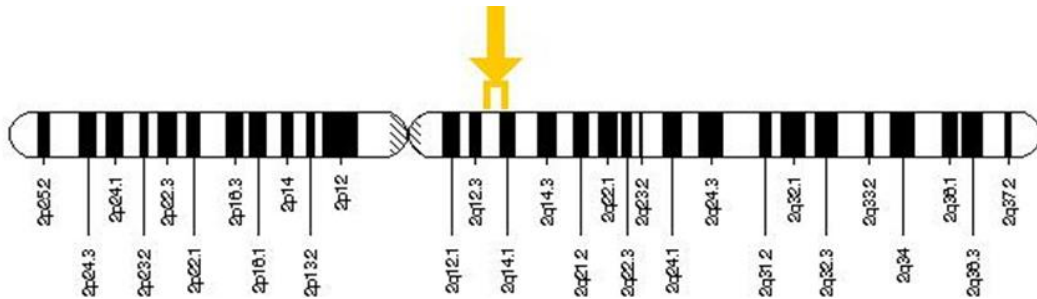
APC'nin çoklu sitoprotektif etkileri, (i) gen ekspresyon profilinde değişiklik; (ii) anti-inflamatuar aktivite; (iii) anti-apoptotik aktivite ve (iv) endotel bariyer fonksiyonunu içermektedir (Şekil 2.2.3C). Bu sitoprotektif etkiler için, genellikle EPCR ve G-protein bağımlı reseptör; proteaz ile aktive olan reseptör-1 (PAR-1) gerekmektedir (Griffin ve ark., 2007).

PAR reseptörleri, insan genomunda dört gen tarafından sentezlenmektedir. PAR-1, proteoliziz ile aktive edilebilen G-protein bağımlı bir reseptördür. EPCR gerektiren reaksiyonlarda, APC, endotel PAR-1'i aktive edebilir ve çeşitli endotel hücre tiplerinde hipoksi/hipoglisemi veya staurosporinle indüklenen apoptozisi inhibe edebilir. Bu aynı iki reseptör, çeşitli fare hasar modellerinde APC'nin farmakolojik dozlarının *in vivo* anti-inflamatuar ve nöroprotektif etkilerini kontrol eder. PAR-1, aktive olan proteaz, proteazın dozu ve hücre tipine bağlı olarak proinflamatuar veya anti-inflamatuar olabilen karmaşık bir reseptördür. Gen ekspresyon profil çalışmaları, trombininkinden farklı olarak APC'nin, PAR-1 bağımlı belli etkilerini göstermiştir (Griffin ve ark., 2007).

2.3. *PROC* GENİ (Gene ID:5624) VE *PROC* GEN POLİMORFİZMİ

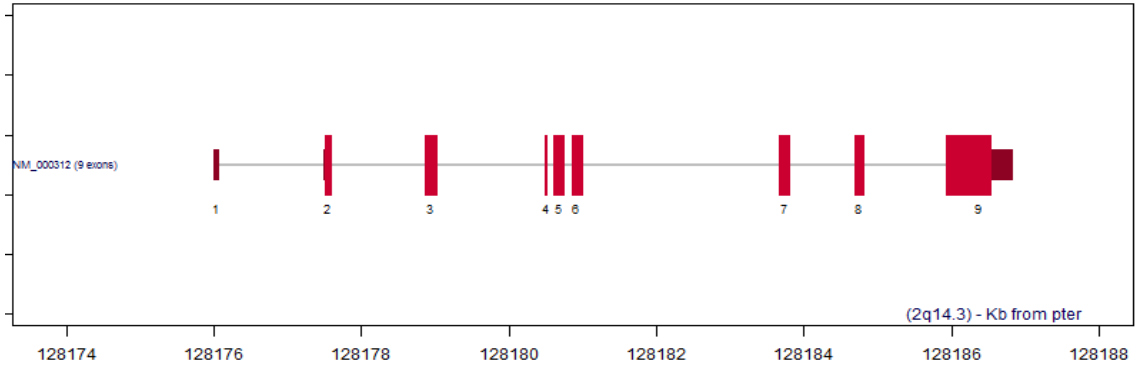
PROC geni, antikoagulant sistemin anahtar bir bileşeni ve vitamin-K bağımlı bir protein olan *PROC*'u kodlar. *PROC*, aktif formuna (APC) trombin-trombomodülin kompleksi aracılığıyla endotel hücrelerinde geçer. Vitamin-K bağımlı başka bir glikoprotein olan PS, APC için bir kofaktör olarak çalışır (Foster ve Davie, 1984; Clouse ve Comp, 1986).

İnsan *PROC* geni cDNA'sı 1985'te klonlanmıştır (Santamaria ve ark., 1985). İnsan *PROC* geni kromozom 2q13-q14'de yerleşiktir (Patracchini ve ark., 1989) (Şekil 2.3.1). Foster ve ark.'ları (1985), *PROC* geninin 8 ekzon içerdiğini ve 11 kb uzunlukta olduğunu bulmuşlar, fakat daha sonra Plutzky ve ark.'ları (1986) *PROC* geninin 9 ekzon içerdiğini ortaya koymuşlardır (Şekil 2.3.2). *PROC* geni 11kb uzunluğunda kodlama bölgesine sahip olup (ekzon II– IX) ekzon 1'in de dahil olduğu 5' transle edilmeyen bölge içermektedir (Aiach ve ark., 1999). Transkriptin uzunluğu (mRNA) 1790 bç (NM_000312.3), translasyon (protein) uzunluğu 461 amino asittir (NP_000303.1). *PROC* geni, 10 transkripte (splays varyant) sahiptir. Bunlardan 6'sı protein kodlamaktadır (http://may2015.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript).



Şekil 2.3.1: *PROC* geninin kromozom 2 üzerindeki yerleşiminin gösterimi

(<http://ghr.nlm.nih.gov/dynamicImages/chromomap/PROC.jpeg>)



Şekil 2.3.2: *PROC* geninin ekzon bölgelerinin gösterimi

(<http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/png/PROC.png>)

Tsay ve ark.'ları (1996), insan *PROC* geni promotör bölgesindeki düzenleyici elementlerini analiz etmişlerdir. Nükleotidler -88 ile +45 arası temel promotör aktivitesi için yeterli olurken, nükleotidler -418 ile +45 arası (transkripsiyon başlangıç noktası yani) kodlanan DNA parçası karaciğer doku özgüllüğünü oluşturur. Karaciğere özgü transkripsiyon faktörleri HNF1, HNF3 ve NF1 için bağlanma bölgelerine tekabül eden 5 cis elementi bulunmuştur. Dört heterozigot mutasyonun, HNF3 (-32A>G ve -27T>A) ve HNF1'in (-14T>C ve -10C>T) bağlanmasını bozduğu gösterilmiştir. Tsay ve ark.'ları (1996), HNF1, HNF3 ve NF1/CTF transkripsiyon faktörlerinin, *PROC* geninin transkripsiyonel regülasyonunda kritik rol oynadığını ortaya koymuştur. Spek ve ark.'ları (1998), HNF6'nın *PROC* gen aktivitesi için başlıca karar verici olduğunu bildirmiştir.

PROC gen ekspresyonunda sorumlu olan düzenleyici DNA elementleri, yukarı promotör bölge ve genin ilk ekzonunda (transle olmayan) tanımlanmıştır. Shamster ve ark.'ları (2000), çekirdek promotörün 500 bp'den daha fazla aşağısında (intron 1 içinde) bulunan ek bir dizi elementinin, insan hepatoma hücrelerinde promotör destekli gen ekspresyonunu artırdığını göstermişlerdir.

PROC geninde 987 adet SNP tespit edilmiştir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>, 14.09.2015). Bunlardan bir tanesi de bizim çalıştığımız -1654C>T polimorfizmidir. Bu polimorfizm ilk kez Hoshi ve ark.'ları (2007) tarafından bir pulmoner emboli hastasında tespit edilmiş ve -154C>T olarak tanımlanmıştır. *PROC* ekspresyonunu düzenleyen 5 cis elementi tanımlanmıştır (Tsay ve ark., 1996). Bunlardan -88 ile +45 ana pozitif promotör, -419 ile -298 arası zayıf pozitif promotör ve -144 ile -88 arası da zayıf negatif promotördür. Promotör bölgesinde -154'üncü nükleotiddeki C>T değişiminin önemi henüz net değildir. Fakat promotör polimorfizminin *PROC* gen ekspresyonu üzerindeki olası düzenleyici etkisi heterozigot eksikliği olan bireylerin penetransını etkileyebilir ve Tip II eksikliğine sebep olabilir (Hoshi ve ark., 2007).

3. MATERYAL VE METOT

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Acil Tıp Servisi'ne gelen hastalardan pulmoner emboli teşhisi konulan, yaşları 29 ile 81 arasında değişen toplam 114 pulmoner emboli hasta ve hasta grubuyla aynı yaş aralığında bulunan ve kendisinde veya ailesinde pulmoner emboli öyküsü bulunmayan toplam 120 sağlıklı kontrolden EDTA'lı tüplere 5'er ml kan alındı. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerden çalışmamıza dahil edildiklerine dair izinleri alındı. Pulmoner emboli hastaları ve kontrol grubundaki bireylerin çalışmaya dahil edilip edilmeme kriterleri Tablo 3.1'de verilmiştir. Bu çalışma için, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Değerlendirme Komisyonunun 05.08.2014 tarihli toplantısında 14-KAEK-178 kayıt numarası ile onay alınmıştır. Çalışmanın tamamı Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda yapıldı. DNA'lar standart yöntemle saflaştırılarak PZR'ları yapıldı. PZR ürünleri restriksiyon enzimi BseGI (BstFI) ile kesilerek –1654C>T polimorfizmi değerlendirildi. Çalışmalarımız Gaziosmanpaşa etik kurulu yönergeleri doğrultusunda yapıldı.

Tablo 3.1: Bireylerin hasta ve kontrol grubuna dahil edilip edilmeme kriterleri

Dahil Edilme Kriterleri	Araştırmanın Hasta Grubu İçin Dahil Edilme Ölçütleri; 1. Pulmoner emboli tanısı konulmuş olması 2. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış olması 3.18 yaşından büyük olması
	Araştırmanın Kontrol Grubu İçin Dahil Edilme Ölçütleri; 1. Pulmoner emboli tanısı almamış olması 2. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış olması 3. 18 yaşından büyük olması
Dahil Edilmeme Kriterleri	Araştırmanın Hasta Grubu İçin Dahil Edilmeme Ölçütleri; 1. Pulmoner emboli tanısı almamış olması 2. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamamış olması 3. 18 yaşından küçük olması
	Araştırmanın Kontrol Grubu İçin Dahil Edilmeme Ölçütleri; 1. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamamış olması 2.18 yaşından küçük olması 3. Pulmoner emboli tanısı almış olması

3.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

3.1.1. Aletler ve Cihazlar

1. PZR Cihazı (Termal Cycler) (Techne, TC 4000, TC 412)
2. Elektroforez Tankı (Cleaver Scientific, MSCHOICE)
3. Elektroforez Güç Kaynağı (Thermo Scientific, EC 300 x L)
4. Jel Görüntüleme Sistemi (QUANTUM-ST4, 1000/20M- 09200806)
5. Bilgisayar (Exper, Intelcore2)
6. Manyetik Karıştırıcı (Velp Scientifica,F20520162)
7. Mikrodalga Fırın (Arçelik İntellowave, MD 554)
8. Hassas Terazı (Kern, ABJ 220-4M)
9. Mikrosantrifüj (Mikro120, Hettich Zentrifugen D- 78 532n)
10. Vorteks (Velp Scientifica; F20220176)
11. Mikropipet Seti (Gilson)
12. Etüv (Memmert, Beschickung-Loading 100- 800)
13. Otoklav (HMC Hirayama, HV-25L)
14. Buzdolabı (Vestel, BZP-L3302W)
15. pH metre (İHANNA, 507702)
16. Su banyosu (MEMMERT)

3.1.2. Kimyasal Maddeler

1. Taq DNA polimeraz (Termo)
2. BseGI (BstFI) (Restriksiyon Enzimi) (Termo)
3. Primerler
4. Agaroz (Biomax)

5. Nusieve Agaroz (Biomax)
6. pUC 19 mix marker (Femantas)
7. Loading dye (Vivantis)
8. 100 mM dNTP set (Fermentas)
9. Trisma Base (Amresco)
10. Borik Asit (Amresco)
11. EDTA (Amresco)
12. Ethidium Bromide (Serva)
13. NaOH (Sodyum Hidroksit) (Riedel-de Haen)
14. DNA İzolasyon Kiti (invitrogen)

3.1.3. Çözeltiler

EDTA Solüsyonu (0,5 M) Hazırlanışı

18,16 g $\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$ 80 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve 2,0 g NaOH karışıma çözülmenin oluşabilmesi için eklendi (pH: 8,0 olacak). Daha sonra pH ayarlaması HCl ile yapıldı ve 100 ml'ye tamamlandı (distile su ile). Hazırlanan EDTA solüsyonu, otoklavlanıp oda sıcaklığında saklandı.

5XTBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu

54 g Trisma Base, 27,5 g Borik Asit ve 20 ml EDTA (0,5 M) 500 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcıyla homojenizasyon sağlanıncaya kadar karıştırıldı. 1 litre distile su ile tamamlanarak çözüldü ve çözelti oda ısısında saklandı.

Etidyum Bromid Solüsyonu (10mg/ml)

10 ml distile su içerisine 0,1 g etidyum bromid ilave edildi ve bir gece boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Kullanılacak tüpler alüminyum folyo ile kaplanarak solüsyonların ilave edilmesiyle +4 °C’de saklandı.

Elektroforez Yürütme Tamponu

5XTBE tamponundan distile su ile seyreltilerek 1XTBE hazırlandı.

%3'lük Agaroz Jel (100ml)

3 g agaroz, 100 ml 1XTBE erlenmayer içerisine eklendi ve mikrodalga fırında 1,5 dakika homojen olana kadar ısıtıldı. Sıcaklığın yaklaşık 65°C düşmesi beklenildikten sonra 3µl etidyum bromid (10mg/ml) eklenip hızlı bir şekilde iyice karıştırıldı ve yükleme yapılacak tarakları hazırlanmış olan kasete döküldü.

3.2. YÖNTEM**3.2.1. DNA İzolasyonu**

Çalışma grubumuzun kan örnekleri, EDTA içeren vakumlu tüplere 5'er ml olarak alındı. Kandan DNA izolasyonu yönteminde İnvitrogen marka DNA izalasyon kitinden yararlanıldı.

1. Kanlar vortekslendi.
2. Ependorf tüpünün içine (1,5 ml) 200 µl kan, 20 µl protein kinaz, 20 µl RNAazA eklendi.
3. 1-2 sn vortekslendi.
4. Üzerine 400 µl lizis solüsyonu ilave edildi ve 1-2 sn vortekslendi.
5. 10 dk 55°C’de su banyosunda bekletildi.
6. Üzerine 200 µl etanol eklendi ve 1-2 sn vortekslendi.

7. Vokteksleme işlemi tamamlanan tüplerdeki karışımlar filtreli ependorflara alındı.
8. 11000 rpm'de 1dk santifüjleme yapıldı.
9. Ependorf kısmı atıldı ve filtreli kısım alınarak, başka bir ependorf tüpüne yerleştirildi.
10. Üzerine 500 µl Wash Buffer 1 eklendi ve 11000 rpm'de 1 dk santifüj edildi.
11. Ependorf atıldı ve filtre kısmı başka bir ependorfa alındı.
12. Üzerine 500 µl Wash Buffer 2 solüsyonu ilave edilerek 13000 rpm'de 3 dk santifüj edildi.
13. Ependorf atıldı ve filtre kısmı başka bir ependorf tüpüne alındı.
14. Üzerine 200 µl Elution Buffer eklendi.
15. Son işlem olarak 1300 rpm'de 1 dk santifüj edildi.
16. DNA artık dipe çökmüştür ve tüplerin üzerine etiketleme yapılarak stok DNA örnekleri -20°C'de saklandı.

3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), nükleik asitlerin *in vitro* olarak, uygun koşullar altında istenilen sayıda tekrarlanabilen döngüler ile çoğaltılması esasına dayanan bir yöntemdir. PZR döngüsündeki üç aşama sırasıyla, DNA çift zincirinin ısıyla birbirinden ayrılması (94°C Denatürasyon), oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanması (Hibridasyon 55-60°C) ve zincirin yeni çift zincirli DNA'lar oluşturacak şekilde uzamasından (Polimerizasyon 72 °C) oluşmaktadır (Saiki ve ark., 1998). Kalıp DNA, dH₂O, tampon, MgCl₂, dNTP'ler (serbest nükleotidler), primerler ve Taq polimeraz PZR karışımı için gerekli olan malzemelerdir (Ergin, 2004). Kalıp DNA olarak; çalışmamızda genomik DNA kullanıldı.

3.2.3. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Analizi

Bir kromozomun aynı bölgesi, aynı türün farklı bireylerinde veya kromozomlarında polimorf olarak tanımlanan iki farklı DNA dizilişine sahip olabilir ve bu durum genetik polimorfizm olarak tanımlanır. Genetik polimorfizme mutasyonlar neden olur. Diploid bireyler içerisinde örneğin, belirli tek kopya genin iki alleli sadece bir nükleotit yönünden bile farklılık gösterebilir ve dolayısıyla gen polimorfik olarak tanımlanabilir. Genetik polimorfizmlere neden olan tek nükleotit polimorfizmleri (SNP'ler) çeşitli mutasyonlar sonucunda meydana gelir. SNP'ler, restriksiyon enzimlerince teşhis edilebilen kısa nükleotid dizileri içinde oluşabilir (Restriksiyon endonükleazlar, DNA'yı tanımlanmış ve üretilebilir fragmentlere kesen bakteriyel enzimlerdir). Böylelikle, bir restriksiyon enzimi tarafından DNA molekülünün kesilmesi ile elde edilen fragmentin uzunluğu her bir farklı allel için farklılık gösterebilir ve bu durum, restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) olarak bilinir. Genetik bir hastalığa neden olan alleli belirleyen özel bir RFLP, klinik teşhiste markır olarak kullanılabilir. Restriksiyon fragmentleri veya PZR ürünleri gibi aynı uzunluktaki DNA parçalarında bulunan SNP'lerin belirlenmesinde jel elektroforezini kullanmak mümkündür (Turner ve ark., 2004).

3.2.4. Elektroforez Tekniği

Sulu bir çözelti içinde asılı küçük elektrik yüklü taneciklerin, uygulanan bir elektrik alanının etkisi ile ayrılma sürecine elektroforez denir. Agaroz, deniz yosunundan üretilen bir polisakkarittir ve %0,5-2 arasındaki yoğunluklarda sulu çözeltilerle çözüldüğünde katı bir jel oluşturur. Elektroforez için kullanılan agaroz,

bakteriyel kültür plakları yapmada kullanılan agarın saflaştırılmış formudur (Kaya, 2002).

3.2.5. *PROC* Geni -1654C>T (C2405T, rs1799808) Polimorfizmi PZR Analizi

PROC geninin -1654C>T (rs1799808) bölgesindeki polimorfizmini belirlemek için yapılan PZR'lerde, hedef gen bölgelerine özgün olarak kullanılan primerler, PZR karışımları ve çoğalma sıcaklıkları sırasıyla Tablo 3.2.5.1, Tablo 3.2.5.2 ve Tablo 3.2.5.3'te gösterilmektedir.

Tablo 3.2.5.1: *PROC* geni -1654C>T polimorfizminin analizinde kullanılan primerler

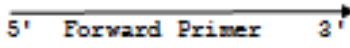
Polimorfizm	Primerler
-1654C>T	F: 5'GGG CAA AAA TGT CCC CAT CTG AA3' R: 5'AGC CCA CCT CTG CCC ACC AAG AAT G3'

PROC genine ait baz dizisi içerisinde bulunan; -1654C>T değişimini içeren polimorfik bölge ve primer bağlanma bölgeleri Şekil 3.2.5.1'de verilmiştir.

```

4501 gatttgtgag caattggagg tgagggtgga gccagtgcc cagcaoctat gcactgggga
4561 cccaaaaagg agcatcttct catgatttta tgtatcagaa attgggatgg catgtcattg
4621 ggacagcgtc tttttctctg tatggtggca cataaataca tgtgtcttat aattaatggt
4681 attttagatt tgacgaaata tggaatatta cctgttctgc tgatcttggg caaactataa
4741 tatctctggg caaaaatgtc cccatctgaa aaacagggac aacgttcttc cctcagccag

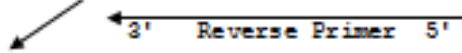
```



```

4801 ccactatggg gctaaaatga gaccacatct gtcaagggtt ttgcoctcac ctccctccct
4861 gctggacggc atccttggty ggcagaggtg ggcttcgggc agaacaagcc gtgctgagct

```



Polimorfik Bölge

```

4921 aggaccagga gtgctagtgc cactgtttgt ctatggagag ggaggcctca gtgctgaggg
4981 ccaagcaaat atttgtggtt atggattaac tcgaactcca ggctgtcatg gggcaggac
5041 ggcgaacttg cagtatctcc acgaccogcc cctgtgagtc cccctccagg caggtctatg
5101 aggggtgtgg agggagggct gccccogga gaagagagct aggtggtgat gaggcctgaa
5161 tccctcagcc aggggtgetca acaagcctga gcttggggty aaaggacaca aggcctcca
5221 caggccaggc ctggcagcca cagtctcagg tccttttgc atgcgctcc ctctttccag
5281 gccaaaggtc cccagggccc agggccatc caacagacag tttggagccc aggaacctcc

```

Şekil 3.2.5.1: *PROC* geni -1654C>T polimorfik bölgesi ve primerlerin bağlanma bölgelerinin gösterilmesi

(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NG_016323.1?from=5001&to=15827&report=genbank)

Tablo 3.2.5.2: *PROC* geninin -1654C>T polimorfizmini içeren bölgesinin klonlanması için kullanılan PZR karışımı

	PZR Bileşeni Stok	25 µl Karışımdaki Miktar	Final konsantrasyon
1	Steril bidistile Su	17,35 µl	-
2	PZR buffer(10×)	2,5 µl	1×
3	MgCl ₂ (25mM)	2,5 µl	2 Mm
4	dNTP Mix (25mM)	0,2 µl	200 µM
5	Primer -forward (100 pmol/ µl)	0,1 µl	20 pmol
6	Primer- reverse (100pmol/ µl)	0,1 µl	20 pmol
7	Taq Polimeraz (5 u/µl)	0,25 µl	1 u
8	Genomik DNA	2 µl	-
	Toplam	25 µl	

Tablo 3.2.5.3: *PROC* geninin ilgili kısmının kopyalanması için kullanılan PZR programı

Program Türü	Derece	Zaman	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	94 °C	4dk.	-
Denatürasyon	94 °C	45sn.	35
Bağlanma	65 °C	40sn.	
Uzama	72 °C	30sn.	
Final uzama	72 °C	5dk	

PROC geni -1654C>T polimorfizmini restriksiyon enzim analizi yöntemi ile belirlemek amacıyla Tablo 3.2.5.2’de verilen -1654C>T bölgesinin çoğaltımında kullanılan, örnek başına olan PZR karışımına göre; her bir PZR tüpünde bulunan 23’er µl’ lik karışımın içerisine 2 µl DNA ilave edilerek toplam hacim 25 µl yapıldı. Tablo 3.2.5.3’teki *PROC* geni -1654C>T bölgesinin polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR programına göre çoğaltılması sağlanarak 147 bç’lik PZR ürünü elde edildi.

3.2.6. *PROC* Geni -1654C>T Polimorfizmi RFLP Analizi

Bu çalışmada, *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi için PZR programı ile çoğaltılmış polimorfik noktasını içeren PZR ürünleri restriksiyon enzim kesimi Tablo 3.2.6.1’de gösterildiği gibi gerçekleştirildi.

Tablo 3.2.6.1: *PROC* geni -1654C>T polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan RFLP karışımı

	RFLP Bileşeni	15 µl Karışımdaki Miktar
1	Buffer	1.5 µl
2	BseGI (BtsCI) enzimi (10u/µl) 5’-...G G A T G N N ↓ ...-3’ 3’-...C C T A C ↑ N N ...-5’	0.5 µl
3	dH2O	2.85 µl
4	BSA	0.15 µl
5	PZR ürünü	10 µl
	Toplam	15µl

PROC geni -1654C>T polimorfizmini belirlemek için Tablo 3.2.6.1’de belirtilen oranda restriksiyon enzim karışımı hazırlandı ve BseGI (BtsCI) restriksiyon enzimi ile 55°C’de 12 saat kesime bırakıldı. Kesim sonuçları Tablo 3.2.6.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2.6.2: *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi için RFLP sonucunda oluşan bantların boyutları

	Bant Boyutları
Homozigot (CC)	147bç
Homozigot(TT)	123bç, 24bç
Heterozigot (CT)	147bç, 123bç, 24bç

3.3. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

İstatistiksel analizleri belirlemek için IBM SPSS İstatistik Paket Program Versiyon 20.0 ve Openepi 3.01 (www.openepi.com) yazılım programları kullanıldı. Sonuçlar ortalama (\pm) ve standart sapma şeklinde verildi. -1654C>T polimorfizmi ile klinik ve demografik özellikler arası ilişki ki-kare, Fisher exact veya varyans analizi (ANOVA testleri) kullanılarak yapıldı. Risk faktörlerinin bulunması için Olasılıklar Oranı (OR) ve %95 Güven Aralığı (CI) kullanıldı. Bütün p değerleri iki uçluydu ve p değeri 0.05’ten düşük olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tespit edilen genotip sıklıkları için Hardy-Weinberg dengesinden hastalarda sapma olup olmadığı; kontrollerde ise uyumlu olup olmadığı Ki-kare (χ^2) testi ile belirlendi.

4.BULGULAR

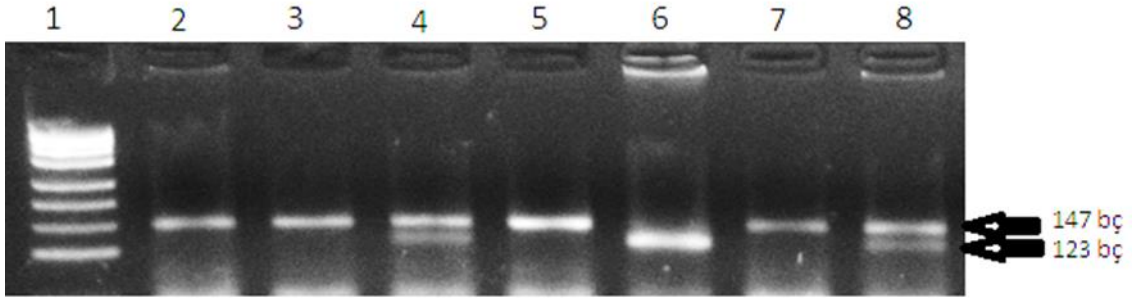
Bu çalışmada, *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi ile pulmoner emboli arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla, yaş ortalaması 58.27 ± 10.629 (en düşük 29, en yüksek 81) olan 114 pulmoner emboli hastası ile yaş ortalaması 56.02 ± 7.920 (en düşük 43, en yüksek 77) olan 120 sağlıklı kontrol çalışıldı. Tokat ve çevresinden Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı'na gelen pulmoner emboli hastalarının ailesel olan ve olmayan her iki grubu da çalışmaya dahil edildi. Hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyetleri birbiri ile uyumlu idi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Çalışmaya dahil edilen pulmoner emboli hastaları ve kontrol grubundaki bireylerin cinsiyet ve yaş ortalamalarına ait istatistiksel bulgular

	Pulmoner Emboli Hasta Grubu (n=114)	Kontrol Grubu (n=120)	p değeri
Cinsiyet			0,312
Kadın	55 (%48,2)	50 (%41,7)	
Erkek	59 (%51,8)	70 (%58,3)	
Yaş Ortalaması	$58,27 \pm 10.629$	$56,02 \pm 7.920$	0,066

Pulmoner emboli teşhisi konmuş hasta ve kontrol grubu DNA'larına uygulanan PZR şartları ve programı tamamen bizim tarafımızdan optimize edilerek başarılı PZR ürünleri elde edildi. PZR sonucunda 147 bç'lik bölge çoğaltılıp elde edilen ürünler görüntülendi.

PZR ürünlerinin BseGI (BtsCI) restriksiyon endonükleazı ile kesilmesi sonucunda homozigot dominant CC, heterozigot CT ve homozigot resesif TT olmak üzere üç farklı genotip belirlendi (Tablo 4.2). Belirlenen genotiplerin jel görüntüleri kayıt edildi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: *PROC* geni -1654C>T polimorfik bölgesinin BseGI (BtsCI) restriksiyon endonükleazı ile belirlenen RFLP sonuçları. Örneklerden 2, 3, 5, 7 homozigot dominant (CC); 6 homozigot resesif (TT); 4,8 heterozigot (CT); 1 pUC19 DNA/MspI (HpaII) marker

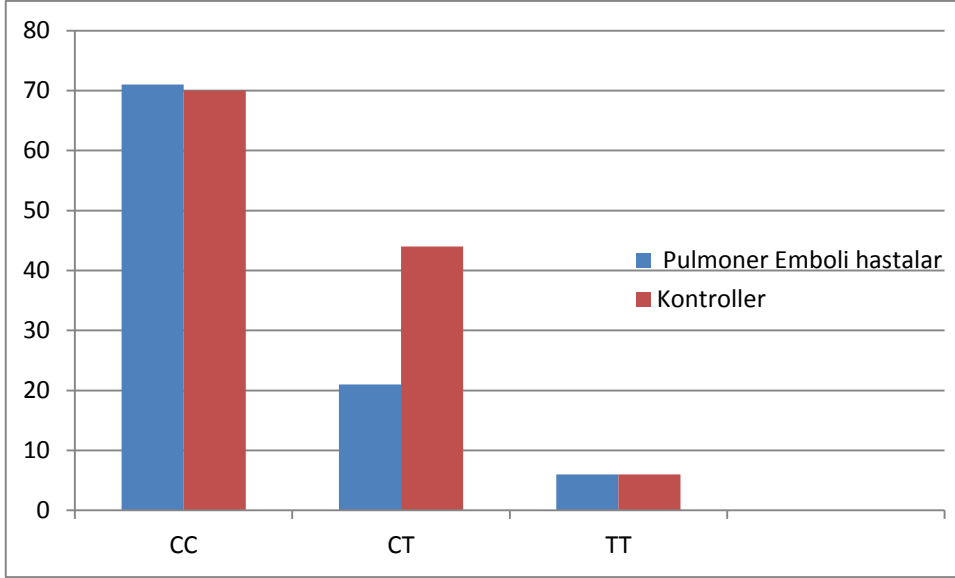
Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz genotip sonuçları şu şekildeydi: Toplam 114 pulmoner emboli hastasının 82'si (%71,9) homozigot dominant CC, 25'i (%21,9) heterozigot CT ve 7'i (%6,1) homozigot resesif TT; toplam 120 kontrolün 70'i (%76,7) homozigot dominant CC, 44'ü (%36,7) heterozigot CT ve 6'sı (%5,0) homozigot resesif TT. Allel frekanslarına baktığımızda hastalarda toplam 228 allelden 189'u (%82,9) C alleli, 39'u (%17,1) T alleli ve kontrollerde toplam 240 allelden 184'ü (%76,7) C, 56'sı (%23,3) T alleli şeklindeydi. Hastaların ve kontrollerin allel sıklıkları birbirleri ile karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p=0.094$), genotip sıklıkları karşılaştırıldığında ise hasta ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.047$). Daha da anlamlı bir ilişki hasta ve kontrol genotipleri CC'ye karşı TT+CT karşılaştırıldığında görüldü ($p=0.029$) (Tablo

4.2) CT+TT genotip frekansı, kontrollerde hastalara oranla daha fazlaydı (%41,7 karşı %28,1) ve dolayısıyla bu genotiplerin hastalığa karşı koruyucu olabileceği düşünöldü.

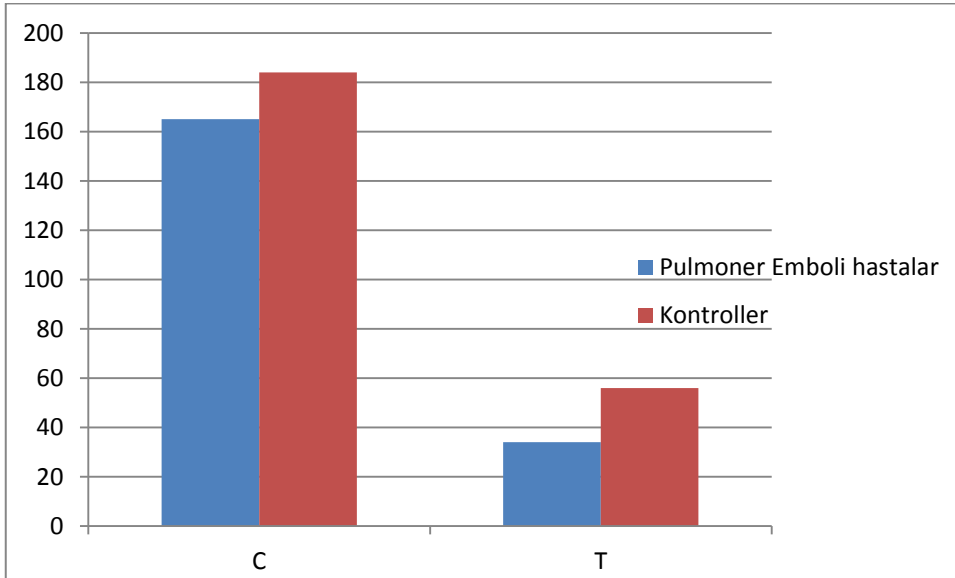
Hasta ve kontrol grubundaki CC, CT, TT genotip sıklıkları ve C ve T allel sıklıkları arasındaki farklar bir histogram ile gösterilerek daha anlaşılır hale getirildi (Şekil 4.2) (Şekil 4.3).

Tablo 4.2: Pulmoner emboli hasta grubu ve kontrol grubunun *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi için genotip ve allel dağılımı

	Hasta Grubu n=114 (%)	Kontrol Grubu n=120 (%)	P	OR (%95Cl)
Genotip				
CC	82 (71,9)	70 (58,3)	0,047	
CT	25 (21,9)	44 (36,7)		
TT	7 (6,1)	6 (5,0)		
CC: CT+TT	82 (71,9) : 32 (28,1)	70 (58,3) : 50 (41,7)	0,029	0.55 (0.31-0.94)
CC+CT: TT	107 (93,9) : 7(6,1)	114 (95,0) : 6 (5,0)	0,703	1.24 (0.39-4.05)
Allel				
C	189 (82,9)	184 (76,7)	0,094	0.68 (0.43-1.07)
T	39 (17,1)	56 (23,3)		



Şekil 4.2: Pulmoner emboli hastaları ve sağlıklı kontrollerde genotip frekanslarının karşılaştırılması



Şekil 4.3: Pulmoner emboli hastaları ve sağlıklı kontrollerde allel frekanslarının karşılaştırılması

Çalışmaya dahil edilen pulmoner emboli hastalarının demografik ve klinik özelliklerinin *PROC* geni -1654C>T polimorfizmine göre değerlendirilmesi Tablo 4.3'te verilmiştir. Yapılan kıkare ve varyans analizleri sonucunda hastalara ait yaş, cinsiyet, eşlik eden hastalıklar (cerrahi, koroner arter hastalığı, şeker, hipertansiyon, serebrovasküler hastalık, malignite), EKG anomalileri (RBBB, sinüs taşikardi, S1Q3T3, AF, iskemi), sigara kullanımı verileri ile *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı. Ancak toraks BT (sağ ana bronş, sağ distal, sol ana bronş, sol distal, her iki ana bronş ve her iki distal) verileri ile *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulundu ($p=0.017$) (Tablo 4.3). Sol ana bronşta emboli görülen hastaların hepsi CC genotipine, sol distalde emboli görülen hastaların hepsi ise CT genotipine sahipti.

Tablo 4.3: Çalışmaya dahil edilen pulmoner emboli hastalarının demografik ve klinik özelliklerinin *PROC* geni -1654C>T polimorfizmine göre değerlendirilmesi

PROC -1654 C>T					
Karakterler	Toplam	CC	CT	TT	P
Cinsiyet n (%)					
Kadın	55 (48.2)	40 (48.8)	10 (40.0)	5 (71.4)	0.333
Erkek	59 (51.8)	42 (51.2)	15 (60.0)	2 (28.6)	
Yaş (yıl)	58,27±10,629	59,38±10,452	54,92±10,004	57,29±13,708	0.180
Beyaz kan hücresi (mm ³ başına)	9947,9±2836,5	10290,5±2861,6	8861,8±2326,6	9952,8±35815	0.098
RDW n (%)	16,34±2,511	16,19±2,446	16,63±2,280	17,10±3,923	0.541
Hematokrit n (%)	38,54±4,131	38,92±4,346	37,70±3,573	37,28±3,153	0.320
Cerrahi, n (%)					
Var	3 (2,6)	3 (3,7)	0	0	0.548
Yok	111 (97,4)	79 (96,3)	25 (100)	7 (100)	
Eşlik eden hastalıklar, n (%)					
Koroner arter hastalığı					
Var	40 (35.1)	30 (36.6)	7 (28.0)	3 (42.9)	0.664
Yok	74 (64.9)	52 (63.4)	18 (72.0)	4 (57.1)	
Diyabet					
Var	41 (36.0)	27 (32.9)	10 (40.0)	4 (57.1)	0.393
Yok	73 (64.0)	55 (67.1)	15 (60.0)	3 (42.9)	
Hipertansiyon					
Var	61 (53.5)	42 (51.2)	14 (56.0)	5 (71.4)	0.566
Yok	53 (46.5)	40 (48.8)	11 (44.0)	2 (28.6)	
Kronik böbrek yetmezliği					
Var	15 (13.2)	12 (14.6)	2 (8.0)	1 (14.3)	0.689
Yok	99 (86.8)	70 (85.4)	23 (92.0)	6 (85.7)	
Serebrovasküler hastalık					
Var	106 (93.0)	76 (92.7)	23 (92.0)	7 (100.0)	0.750
Yok	8 (7.0)	6 (7.3)	2 (8.0)	0	
Malignite					
Var	10 (8.8)	7 (8.5)	3 (12.0)	0	0.605
Yok	104 (91.2)	75 (91.5)	22 (88.0)	7 (100.0)	

Tablo 4.3: Çalışmaya dahil edilen pulmoner emboli hastalarının demografik ve klinik özelliklerinin *PROC* geni -1654C>T polimorfizmine göre değerlendirilmesi (devam)

Karakterler	PROC -1654 C>T				P
	Toplam	CC	CT	TT	
EKG anomalileri, n (%)					
RBBB					
Var	19 (16.7)	16 (19.5)	3 (12.0)	0	0.321
Yok	95 (83.3)	66 (80.5)	22 (88.0)	7 (100.0)	
Sinus taşikardı					
Var	39 (34.2)	27 (32.9)	8 (32.0)	4 (57.1)	0.417
Yok	75 (65.8)	55 (67.1)	17 (68.0)	3 (42.9)	
S1Q3T3					
Var	31 (27.2)	21 (25.6)	7 (28.0)	3 (42.9)	0.613
Yok	83 (72.8)	61 (74.4)	18 (72.0)	4 (57.1)	
Atrial fibrilasyon					
Var	29 (25.4)	20 (24.4)	7 (28.0)	2 (28.6)	0.918
Yok	85 (74.6)	62 (75.6)	18 (72.0)	5 (71.4)	
İskemi					
Var	14 (22.3)	11 (13.4)	2 (8.0)	1 (14.3)	0.760
Yok	100 (87.7)	71 (86.6)	23 (92.0)	6 (85.7)	
Toraks BT, n (%)					
Sağ ana bronş	20 (18.5)	14 (17.9)	5 (21.7)	1 (14.3)	0.017
Sağ distal	29 (26.9)	20 (25.6)	7 (30.4)	2 (28.6)	
Sol ana bronş	6 (5.6)	6 (7.7)	0	0	
Sol distal	4 (3.7)	0	4 (17.4)	0	
Her iki ana bronş	45 (41.7)	36 (46.2)	6 (26.1)	3 (42.9)	
Her iki distal	4 (3.7)	2 (2.6)	1 (4.3)	1 (14.3)	
Sigara, n (%)					
Kullanıyor	64 (56.1)	44 (53.7)	17 (68.0)	3 (42.9)	0.344
Kullanmıyor	50 (43.9)	38 (46.3)	8 (32.0)	4 (57.1)	

Veriler kıkare ve varyans analizleriyle değerlendirildi. Yaş, beyaz kan hücresi, RDW, hematokrit, için ortalama ± standart sapma değerleri verildi. RDW: Kırmızı kan hücresi dağılım çapı, EKG: Elektrokardiyografi, RBBB: Sağ dal bloğu, BT: Bilgisayarlı tomografi

5.TARTIŞMA

Büyük oranda ayaklardaki DVT'den kaynaklanan pulmoner emboli, asemptomatik ve tesadüfen fark edilen emboliden, ani ölüme sebep olan ağır emboliye kadar değişim gösteren bir hastalıktır. Akut pulmoner emboli, hızlı ve beklenmedik bir şekilde ortaya çıkabilir ve tanısı zor olabilir. Tedavi, ölüm riskini azaltabilir ve genellikle uygun primer profilaksi etkilidir (Tapson, 2008).

PROC, K vitaminine bağımlı bir plazma glikoproteinidir. Bu proteinin hafif ya da ağır genetik bozuklukları sırasıyla venöz tromboz ve neonatal purpura fulminans ile ilişkilendirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, APC'nin trombin oluşumunu düzenlemek için, faktörler Va ve VIIIa'yı inaktive ettiğini göstermiştir (Griffin ve ark., 2007). PROC eksikliği olan bireyler, DVT ve pulmoner emboli için risk altındadır.

Biz bu çalışmada, *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi ile pulmoner emboli arasındaki ilişkiyi araştırdık. Yaş ortalaması 58.27±10.629 olan 114 pulmoner emboli hastası ile yaş ortalaması 56.02±7.920 olan 120 kontrol grubu çalışmaya dahil edildi. *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi ile pulmoner emboli arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu bulundu (p=0.047). Çalışmamızda, hasta grubunda CC genotip sıklığının, CT ve TT genotip sıklığına oranla daha fazla gözlemlenmiş olması, CC genotipinin hastalığa sebep olan genotip olduğunu ortaya koymuştur.

Literatürde, *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi ile pulmoner emboli arasındaki ilişkiyi çalışan iki çalışma mevcuttur. Bu iki çalışmada Çin popülasyonunda yapılmıştır ve bizim sonuçlarımızın tam tersi sonuçlar elde etmişlerdir. İlki 2012 yılında Zhang ve ark.'ları tarafından 63 pulmoner tromboemboli hastası ve 86 kontrol üzerinde yapılan çalışmadır ve bu çalışmada -1654C>T polimorfizmi T allelinin (2405T) pulmoner tromboemboli riskini artırdığı, C allelin ise olası koruyucu faktör olduğu bulunmuştur

($p < 0.05$). İkinci çalışma ise 2014 yılında Zhu ve ark.'ları tarafından 110 pulmoner emboli hastası ve 190 kontrol ile yapılan çalışmadır, Bu çalışmada *PROC* geninde üç SNP araştırılmıştır (Zhu ve ark., 2014). Bu üç SNP bölgesinin (-1654C>T, -1641A>G ve -1476A>T) genotip frekansları, -1654C>T polimorfizminin C ve T allel frekansları, pulmoner emboli grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermiştir. Bulgular, bizim sonuçlarımızdan farklı olarak -1654C>T polimorfizmi TT genotipinin pulmoner emboli için risk faktörü olduğunu göstermiştir (OR 2.245, %95CI, 1.252-4.027).

PROC geni -1654C>T polimorfizmi ile VTE arasındaki ilişki de birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır. Spek ve ark.'ları (1995), *PROC* geni C(-1654)T, A(-1641)G, and A(-1476)T polimorfik bölgeleri için CC/GG/TT haplotipinin kan plazmasında azalan *PROC* konsantrasyonu ve dolayısıyla venöz tromboz riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Yine Aiach ve ark.'ları (1999) tarafından da, *PROC* geni 1654C>T ve -1641A>G polimorfik bölgeleri ile venöz tromboz arasındaki ilişki, Fransız populasyonunda 242 VTE hastası ve 394 kontrol üzerinde araştırılmıştır. Tromboz riskinin CG haplotipine sahip genç taşıyıcılarda yükselmiş olduğu ve dolayısıyla CG haplotipinin düşük *PROC* seviyesi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Son olarak Pomp ve ark.'ları (2009), Hollanda'da *PROC* geni promotor bölgesindeki iki polimorfizmin (2405C>T ve 2418A>G pozisyonu) venöz tromboz ve plazma *PROC* seviyesi üzerine etkisini araştırmışlar ve CC/GG genotipinin daha düşük *PROC* seviyesi ile ilişkili olduğunu ve venöz tromboz riskini 1.3 kat (%95CI 1.09-1.48) artırdığını bulmuşlardır. Avrupa populasyonunda yapılan bu çalışmaların sonuçları, bizim sonuçlarımızla uyum göstermektedir.

Etnik köken, pulmoner emboliyi de içeren birçok hastalık için genetik risk faktörleri üzerinde önemli rol oynayabilir. Faktör V Leidin ve koagulasyon faktörü II genlerindeki polimorfizmler, Avrupa ve Amerika'da venöz tromboz ile ilişkilendirilen başlıca iki kalıtsal faktördür. Ama bu değişimler Asya populasyonunda çok nadirdir (Zhu ve ark., 2014). Pulmoner embolinin moleküler mekanizmasının farklı populasyonlarda farklı olabileceği görülmektedir.

Bizim çalışmamız, *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi ile pulmoner emboli arasındaki ilişkiye yönelik Türk populasyonunda yapılan ilk çalışmadır. Bu çalışmada elde ettiğimiz bulgulara göre *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi ile pulmoner emboli arasında anlamlı bir ilişki ortaya çıkmıştır. Bizim bulgularımız pulmoner emboli hastaları için daha fazla genetik testlerin gerçekleştirilmesi gerektiğini göstermektedir. Bu amaçla daha geniş skalalı çalışmalar yapılmalıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmaya Gaziosmanpaşa Üniversitesi Acil Tıp Anabilim Dalına başvuran pulmoner emboli geçirmiş hasta grubu ile pulmoner emboli geçirmemiş kontrol grubu hastaları dahil edildi. Yaş ortalaması 58.27 ± 10.629 olan pulmoner embolili hastalar ile yaş ortalaması 56.02 ± 7.920 olan kontrol grubu *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi açısından karşılaştırıldı. Pulmoner emboli ile *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu.

Pulmoner emboli ile *PROC* geni -1654C>T polimorfizmi arasındaki ilişkinin daha açık ve derinlemesine ortaya konulması pulmoner emboliye sebep olabilecek risk faktörlerinin önceden belirlenmesini ve hastalıktan korunmayı sağlayabilir. Ayrıca, hasta ve kontrollerin plazma *PROC*;Ag ve/veya *PROC*;A değerleri karşılaştırılarak hangi genotipin hangi tip (I veya II) eksiklikle bağlantılı olduğu ortaya konulabilir.

7. KAYNAKLAR

- Aiach M, Nicaud V, Alhenc-Gelas M, ve ark., (1999), Complex association of protein C gene promoter polymorphism with circulating protein C levels and thrombotic risk, *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:1573-6
- Anderson FA Jr; Wheeler HB; Goldberg RJ; Hosmer DW; Patwardhan NA; Jovanovic B; Forcier A; Dalen JE, (1991), A population-based perspective of the hospital incidence and case-fatality rates of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. The Worcester DVT Study. *Arch Intern*151(5):933-938
- Beck, EA.; Charache, P. & Jackson, DP., (1965). A new inherited coagulation disorder caused by abnormal fibrinogen (fibrinogen Baltimore). *Nature*, Vol.208, No.5006, pp. 143–145, ISSN 0028-0836
- Bereczky, Z.; Kovács, KB. & Muszbek, L., (2010), Protein C and protein S deficiencies:similarities and differences between two brothers playing in the same game.*Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, Vol.48, No.Suppl 1, (December 2010), pp.S53-66, ISSN 1434-6621
- Bertina, RM., (1997), Factor V Leiden and other coagulation factor mutations affecting thrombotic risk. *Clinical Chemistry*, Vol.43, No.9, pp.1678–1683,ISSN 0009-9147
- Bick RL, (1992), Coagulation abnormalities in malignency: A rewiev *Semin Thromb Hemost* 18:353-369
- Birdwell BG; Raskob GE; Whitsett TL; Durica SS; Comp PC; George JN; Tytle TL; McKee PA, (1998), The clinical validity of normal compression ultrasonography

- in outpatientssuspected of having deep venous thrombosis, *Ann Intern Med* 1;128(1):1-7
- Castellino FJ., (2001), Gene targeting in hemostasis: protein C, *Front Biosci*, 6:D807-19
- Ceelig, H., (2004), Spaargaren-van Riel, CC.; Bertina, RM.&HL. G20210A is a functional mutation in the prothrombin gene, effect on protein levels and 3'-end formation, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2,1, pp.119-127,ISSN 1538-7933
- Church A.MD ve ark., (2012), *The Emergency Medicine Approach To The Evaluation And Treatment Of Pulmonary Embolism*, Volume 14, Number 12
- Clouse, L. H., Comp, P. C., (1986), The regulation of hemostasis: the protein C system. *New Eng. J. Med.* 314: 1298-1304
- Cohen AT, Agnelli G, Anderson FA, Arcelus JI, Bergqvist D, Brecht JG, Greer IA, Heit JA, Hutchinson JL, Kakkar AK, Mottier D, Oger E, Samama MM, Spannagl M.,(2007), VTE Impact Assessment Group in Europe (VITAE) Venous thromboembolism (VTE) in Europe. The number of VTE events and associated morbidity and mortality, *Thromb Haemost*, 98(4):756-764
- Comp PC, Esmon CT.,(1984), Recurrent venous thromboembolism in patients with a partial deficiency of protein S, *N Engl J Med*, 311:1525-8
- Cushman M.,(2007), Epidemiology and risk factors for venous thrombosis. *Semin Hematol*, 44:62-69
- Dahlbäck B., (1991), Protein S and C4b-binding protein:components involved in the regulation of the protein C anticoagulant system. *Thromb Haemost*, 66:49-61
- Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson P.,(1993), Familial thrombophilia due to a previously unrecognised mechanism characterised by poor anticoagulant

- response to activated protein C:prediction of a cofactor to activated proteinC.
Proc Natl Acad Sci USA, 90: 1004-1008
- Dahlback B., (1995a), The protein C antikoagulant system: Inherited defects as basis for venous Thrombosis, *Thromb Res*, 77:1
- Dahlbäck B., (2008), Advances in understanding pathogenicmechanismsof thrombophilic disorders, *Blood*, Vol.112, No.1, pp. 19-27, ISSN 0006-4971
- De Stefano V, Finazzi G, Mannucci M., (1996), Inherited thrombophilia: Pathogenesis, clinical syndromes and management, *Blood* 87: 3531
- De Stefano V, Martinelli I, Mannucci PM, ve ark., (1999), The risk of recurrent deep venous thrombosis among heterozygous carriers of both factor V Leiden and the G20210A prothrombin mutation. *N Engl J Med*, 341:801-6
- Deitelzweig S, Jaff MR.,(2004), Medical management of venous thromboembolic disease.*Tech Vasc Interv Radiol*, 7(2):63-67
- Egeberg O., (1965), On the natural blood coagulation inhibitor system. Investigations of inhibitor factors based on antithrombin deficient blood. *Thrombosis et diathesis haemorrhagica*, Vol.14, No.3-4, pp.473-489, ISSN 0340-5338
- Ehsan A. ve Plumbley JA., (2002), Introduction to Thrombosis and Anticoagulant Therapy,In: *Clinical Hematology and Fundamentals of Hemostasis (4th Edition)*, Harmening DM.,pp. 534-562, F. A. Davis Company, ISBN 0-8036-0783-0, Philadelphia, USA
- Ergin, M., (2004), Moleküler Patoloji.*Aegean Patology Jurnal*, Temizkan, G. ve Arda N.,İstanbul Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİYOGEM). Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler Kitabı. Genişletilmiş 2. Baskı. Nobel Kitap Evi. İstanbul. 1:103-107

- Escobar, CE.; Harmining, DM.; Joiner Maier, DM.; Simmons, VL.; Smith-Moore, KM. &Wyrick-Glatzel, J.,(2002), Introduction to Hemostasis, In: *Clinical Hematology and Fundamentals of Hemostasis* (4th Edition), Harmening, DM., pp. 441-470, F. A. Davis Company, ISBN 0-8036-0783-0, Philadelphia, USA
- Esmon CT, (1987),The regulation of natural anticoagulant pathways. *Science* 235: 1348-1352
- Esmon CT.,(1989),The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem*, 264:4743-6
- Finazzi, G.; Caccia, R. & Barbui, T., (1987), Different prevalence of thromboembolism in the subtypes of congenital antithrombin III deficiency: Review of 404 cases, *Thrombosis and Haemostasis*, Vol.58, No.4, 1094, ISSN 0340-6245
- Foley JH, Ferris L and Brummel-Ziedins KE (2012), Characteristics of fibrin formation and clot stability in individuals with congenital type IIb protein C deficiency, *Thromb. Res.* 129: e142-e146
- Formstone CJ, Hallam PJ, Tuddenham EG, Voke J, ve ark., (1996), Severe perinatal thrombosis in double and triple heterozygous offspring of a family segregating two independent protein S mutations and a protein C mutation. *Blood* 87:3731-3737
- Foster, D., Davie, E. W., (1984), Characterization of a cDNA coding for human protein C. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 81: 4766-4770
- Foster DC, Yoshitake S and Davie EW., (1985), The nucleotide sequence of the gene for human protein C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 82: 4673-4677
- Goldhaber, SZ., (2002), Thrombolysis for pulmonary embolism. *N Engl J Med* 347:1131-1132

- Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS, Kleiss AJ, Widemann C.,(1981), Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J Clin Invest*,68:1370-3
- Griffin JH, Fernandez JA, Gale AJ., (2007), Mosnier LO. Activated protein C. *J Thromb Haemost*, 5 (Suppl. 1): 73–80
- Griffin JH.,(2000), Control of coagulation reactions. In: Beutler E, Lichtman MA Eds. *Williams Hematology*, 6th ed. McGraw-Hill,1435-1449
- Heit JA, Cohen AT, Anderson FA.,(2005), VTEImpact Assessment Group. Estimated annual number of incident and recurrent, non-fatal and fatal venous thromboembolism(VTE) events in the U. S. *Blood*,106:267a. abstract
- Heit JA; Kobbervig CE; James AH; Petterson TM; Bailey KR; Melton LJ 3rd,(2005), Trends in the incidence of venous thromboembolism during pregnancy or postpartum: a 30-year populationbased study. *Ann Intern Med*, 143(10):697-706
- Hirsh J, Hoak J.,(1996), Management of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. A statement for healthcare professionals. Council on Thrombosis (in consultation with the Council on Cardiovascular Radiology), American Heart Association. *Circulation*, 93(12):2212-2245. (Review)
- Horlander KT, Mannino DM, Leeper KV.,(2003), Pulmonary embolism mortality in the United States, 1979-1998: an analysis using multiple-cause mortality data. *Arch Intern Med*, 163:1711-7
- Hoshi S, Hijikata M, Togashi Y, et al.,(2007), Protein C Deficiency in a Family with Thromboembolism and Identified Gene Mutations. *Intern Med*,46(13):997-1003
- Hull R; Hirsh J; Sackett DL; Taylor DW; Carter C; Turpie AG; Powers P.,(1981), Clinical validity of a negative venogram in patients with clinically suspected venous thrombosis, *Gent MCirculation*, 64(3):622-625

- Jadaon M. M.,(2012), Aetiology of Venous Thrombosis, Kuwait University, Kuwait,
DOI:10.5772/26775
- Kalafatis M, Bertina RM, Rand MD, Mann KG.,(1995), Characterization of the
molecular defect in factor V R506Q. *J Biol Chem*, 270:4053–7
- Kaya, A., (2002), Elektroforez Yöntemleri. *Dicle Tıp Dergisi (Journal of Medical
School)*, C:29, S:3
- Kline JA, Mitchell AM, Kabrhel C, ve ark.,(2004), Clinical criteria to prevent
unnecessary diagnostic testing in emergency department patients with suspected
pulmonary embolism. *J Thromb Haemost.* 2(8):1247-1255 (Derivation [3148
patients] and validation [1809 patients] of a decision rule)
- Koster T, Small R-A, Rosendaal FR, ve ark.,(1995), Oral contraceptives and venous
thromboembolism: A quantitative discussion of the uncertainties *J Intern Med*
238:31-37
- Kroegel C, Reissing A.,(2003), Principle mechanisms underlying venous
thromboembolism: Epidemiology, risk factors, pathophysiology and
pathogenesis. *Respiration*, 70(1):7-30
- Laffan, MA. ve Manning, RA., (2002a), Investigation of Haemostasis, In: *Dacie and
Lewis Practical Haematology* (9th Edition), Lewis, SM.; Bain, BJ. & Bates, I.,
pp. 339-390, Churchill Livingstone, ISBN 0-4430-6378-8,London, UK
- Laffan, MA. ve Manning, RA., (2002b), Investigation of Thrombotic Tendency, In:
Dacie and Lewis Practical Haematology (9th Edition), Lewis, SM.; Bain, BJ. &
Bates, I., pp. 391-413, Churchill Livingstone, 0-4430-6378-8,London, UK
- Leizorovicz A, Turpie AGG, Cohen AT,Wong L, Yoo MC, Dans A.,(2005),
Epidemiology of venous thromboembolism in Asian patients undergoing major

- orthopedic surgery without thromboprophylaxis: the SMART Study. *J Thromb Haemost*, 3:28-34
- Lensing AW; Prandoni P; Brandjes D; Huisman PM; Vigo M; Tomasella G; Krekt J; Wouter Ten Cate J; Huisman MV; Buller HR,(1989), Detection of deep-vein thrombosis by real-time B-mode ultrasonography. *N Engl J Med*, 9;320(6):342-345
- Lu Y, Zhao Y, Liu G, ve ark.,(2002), Factor V gene G1691A mutation, prothrombin gene G20210A mutation, and MTHFR gene C677T mutation are not risk factors for pulmonary thromboembolism in Chinese population. *Thromb Res*,106:7-12
- Maroney, SA. ve Mast, AE., (2008), Expression of tissue factor pathway inhibitor by endothelial cells and platelets. *Transfusion and Apheresis Science*, Vol.38, No.1, pp. 9-14, ISSN 1473-0502
- Miletich J, Sherman L and Broze G Jr, (1987), Absence of thrombosis in subjects with heterozygous protein C deficiency. *N. Engl. J. Med.* 317: 991-996
- Naito M, Mimuro J, Endo H, Madoiwa S. ve ark., (2003), Defective sorting to secretory vesicles in trans-Golgi network is partly responsible for protein C deficiency: molecular mechanisms of impaired secretion of abnormal protein C R169W, R352W, and G376D. *Circ. Res.* 92: 865-872
- Nordstrom M, Lindblad B, Berqvist D, ve ark.,(1992), A prospective study of the incidence of deepvein thrombosis within a defined urban population, *J Intern Med* 232:155-160
- Patracchini, P., Aiello, V., Palazzi, P., Calzolari, E.,Bernardi, F., (1989), Sublocalization of the human protein C gene on chromosome 2q13-q14. *Hum. Genet.* 81: 191-192

- Pengo V, Lansing AWA, Prins MH, ve ark.,(2004), Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after pulmonary embolism. *N Engl J Med*, 350:2257-2264
- Periard D, Haesler E, Ducrey N, vonder Weid N, Mazzolai L.,(2006), Venous thromboembolic disease in adolescents *Rev Med Suisse*, 1;2(51):318-322
- Plutzky, J., Hoskins, J. A., Long, G. L., Crabtree, G. R., (1986), Evolution and organization of the human protein C gene. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 83: 546-550
- Pomp ve ark.,(2009), Polymorphisms in the protein C gene as risk factor for venous thrombosis, 101/1 (Jan) pp. 1-216, 62-67
- Poort, SR.; Rosendaal, FR.; Reitsma, PH. & Bertina, RM. (1996). A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis, *Blood*, Vol.88, No.10, pp. 3698-3703, ISSN 0006-4971
- Rickler FR, Edwards RL,(1983), Activation of blood coagulation in cancer: Trousseau's syndrome revisited *Blood* 62 :14-31
- Righini M, Paris S, Le Gal G, Laroche JP, Perrier A,(2006), Bounameaux H. Clinical relevance of distal deep vein thrombosis. Review of literature data. *Thromb Haemost.*, 95(1): 56-64
- Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A, ve ark.,(1994), Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost* 1998;79:706-8
- Roy L. Silverstein, Kenneth A. Bauer, Mary Cushman, Charles T. Esmon, William B. Ershler and Russell P. Tracy,(2007), Venous thrombosis in the elderly: more questions than answers *Blood*, 110: 3097-3101

- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn G.T., Mullis K.B. ve Erlich H.A., (1988), Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239(4839):487-91
- Sandler DA; Martin JF; Duncan JS; Blake GM; Ward P; Ramsay LE; Lamont AC; Ross B; Sherriff S; Walton L,(1984), Diagnosis of deep-vein thrombosis: comparison of clinical evaluation, ultrasound, plethysmography, and venoscan with X-ray venogram. *Lancet*, 2(8405):716-719
- Sandler DA, Martin JF.,(1989), Autopsy proven pulmonary embolism in hospital patients: are we detecting enough deep vein thrombosis? *JR Soc Med* 82:203-5
- Santamaria, R., Roncuzzi, L., Sbarra, D., Cortese, R., Romeo, G., (1985), Isolation and sequence of a cDNA coding for human protein C. In: *New Trends in Experimental Haematology Sero Symposium*. : Rome: Istituto Superiore di Sanita (pub.) Pp. 296-297.
- Scopes D, Berg LP, Krawczak M, Kakkar VV, Cooper DN.,(1995), Polymorphic variation in the human protein C (PROC) gene promoter can influence transcriptional efficiency in vitro. *Blood Coag Fibrinol.*, 6:317–321
- Shamsher, M. K., Chuzhanova, N. A., Friedman, B., Scopes, D. A., Alhaq, A., Millar, D. S., Cooper, D. N., Berg, L.-P., (2000), Identification of an intronic regulatory element in the human protein C (PROC) gene. *Hum. Genet.* 107: 458-465
- Silverstein MD, Heit JA, Mohr DN, ve ark.,(1998), Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a 25-year population-based study. *Arch Intern Med* 158:585-593

- Spek CA, Poort SR, Bertina RM, ve ark.,(1994), Determination of the allelic and haplotype frequencies of three polymorphisms in the promoter region of the human protein C gene. *Blood Coagul Fibrinolysis* 5:309-11
- Spek CA, Koster T, Rosendaal FR, Bertina RM, Reitsma PH.,(1995), Genotypic variation in the promoter region of the protein C gene is associated with plasma protein C levels and thrombotic risk *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 15:214-218
- Spek, C. A., Lannoy, V. J., Lemaigre, F. P., Rousseau, G. G., Bertina, R. M., Reitsma, P. H., (1998), Type I protein C deficiency caused by disruption of a hepatocyte nuclear factor (HNF)-6/HNF-1 binding site in the human protein C gene promoter. *J. Biol. Chem.* 273: 10168-10173
- Stein PD, Woodard PK, Weg JG, ve ark.,(2007), Diagnostic pathways in acute pulmonary embolism: Recommendations of the PIOPED II investigators. *Radiology.* 242(1):15-21. (Review/ guidelines)
- Stein PD; Beemath A; Matta F; Weg JG; Yusen RD; Hales CA; Hull RD; Lerner KV Jr;Sostman HD; Tapson VF; Buckley JD;Gottschalk A; Goodman LR; Wakefield TW; WoodardPK,(2007), Clinical characteristics of patients with acute pulmonary embolism: data from PIOPED II.*Am J Med.*,120(10):871-879
- Stenflo J.,(1976), A new vitamin K-dependent protein. Purification from bovine plasma and preliminary characterization. *J Biol Chem*, 251:355–63
- Sugahara Y, Miura O, Hirosawa S and Aoki N, (1994), Compound heterozygous protein C deficiency caused by two mutations, Arg-178 to Gln and Cys-331 to Arg, leading to impaired secretion of mutant protein C. *Thromb. Haemost.* 72: 814-818.

- Svensson, P.J. & Dahlbäck, B., (1994), Resistance to activated protein C as a basis for venous thrombosis. *New England Journal of Medicine*, Vol.330, No.8,pp.517-522, ISSN 0028-4793
- Tapson V.F., M.D,(2008), Acute Pulmonary Embolism *N Engl J Med*, 358:1037-52
- ten Kate, M.K. ve van der Meer, J., (2008), Protein S deficiency: a clinical perspective.*Haemophilia*, Vol.14, No.6, pp. 1222-1228, ISSN 1351-8216
- Tollefsen, D.M. & Blank, M.K., (1981), Detection of a new heparin-dependent inhibitor of thrombin in human plasma. *Journal of Clinical Investigation*, Vol.68, No.3,pp. 589-596, ISSN 0021-9738
- Torbicki A., Perrier A. ve ark.,(2008), Akut Pulmoner Embolide Tanı ve Tedavi Kılavuzu, Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) Akut Pulmoner Emboli Tanı ve Tedavisi Görev Grubu
- Tsay, W., Lee, Y.-M., Lee, S.-C., Shen, M.-C., Chen, P.-J., (1996), Characterization of human protein C gene promoter: insights from natural human mutants. *DNA Cell Biol.* 15: 907-919
- Turner, P.C, MacLennan, A.G., Bates A.D. ve White, M.R.H., (2004), Moleküler Biyoloji Önemli Notlar. Editör: Konuk, M. Nobel Yayın Dağıtım,64-65. Ankara
- White R.H., (2003), The epidemiology of venous thromboembolism. *Circulation*.107:I-4-I-8
- Yang L.-H. ve ark.,(2014), Different impact of two mutations of a novel compound heterozygous protein C deficiency with late onset thrombosis *Genet. Mol. Res.* 13 (2): 2969-2977
- Zhang Y.-J. ve ark.,(2012), Protein C polymorphism and susceptibility to PTE in China, DIO:10.1097/MBC.0b013e328355a7f2

Zhu C, Jiang T, Miao Y, Gong S, Cheng K, Guo J, Tan X, Yue J, Liu J.,(2014), The SNPs (-1654C/T, -1641A/ G and -1476A/T) of protein C promoter are associated with susceptibility to pulmonary thromboembolism in a Chinese population. *J Thorac Dis*,6(7):943-948. doi: 10.3978/ j.issn.2072-1439.2014.06.30

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NG_016323.1?from=5001&to=15827&report=genbank

<http://ghr.nlm.nih.gov/dynamicImages/chromomap/PROC.jpeg>

<http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/png/PROC.png>

http://may2015.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000115718;r=2:127418427-127429246;t=ENST00000234071

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?chooseRs=all&locusId=5624&mrna=NM_000312.3&ctg=NT_005403.18&prot=NP_000303.1&orien=forward&refresh=refresh

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı: Tuba CEVİZ

Doğum Yeri: TOKAT

Doğum Tarihi: 01.02.1988

Medeni Durum: Bekar

Yabancı Dil: İngilizce

E-Mail: tubaceviz60@gmail.com

Eğitim Durumu:

Lise: 2002-2005 Tokat Gaziosmanpaşa Lisesi

Lisans: 2009-2013 Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümü

Yüksek Lisans: 2013-2015 Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans Tez Konusu: Pulmoner Emboli Tanısı Almış Hastalarda *PROC* Gen Polimorfizmi Değerlendirilmesi

